G. LUCHETTI e E. MOSCHINI

SULL'AZIONE BIOLOGICA DEI SALI TALLOSI SUI VEGETALI INFERIORI E SUPERIORI

Estratto dai **Nuovi Annali dell'Agricoltura**
Editi dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste
Anno XIX — 1939

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
LIBRERIA
—
1939-XVII

G. LUCHETTI e E. MOSCHINI

SULL'AZIONE BIOLOGICA DEI SALI TALLOSI SUI VEGETALI INFERIORI E SUPERIORI

Estratto dai **Nuovi Annali dell'Agricoltura**
Editi dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste
Anno XIX — 1939

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
LIBRERIA
—
1939-XVII

Tipografia Operaia Romana — Via Emilio Morosini, 17 — Roma, 1939-XVII

G. LUCHETTI e E. MOSCHINI

SULL'AZIONE BIOLOGICA DEI SALI TALLOSI SUI VEGETALI INFERIORI E SUPERIORI

1. — Introduzione e scopo del lavoro.

I sali di tallio vanno assumendo ogni giorno maggiore importanza sia in Medicina che in Agricoltura. Fra gli usi agricoli sono da ricordare, come più diffusi ed importanti, quello dei composti tallosi nella lotta contro gli insetti, diffuso specialmente in America, secondo quanto ne riferisce Brook (4), e contro i roditori in special modo. L'uso dei veleni a base di tallio, contro i roditori, sia dei campi che delle case, è ormai diffuso in tutto il mondo, sebbene non ancora su vasta scala. Ne fanno fede le numerose pubblicazioni sull'argomento, fra le quali ci limitiamo a citare quelle di Bodnár e Terényi (2), Buschke, Zondek e Bermann (7), Munch e Silver (16), Schander e Götze (21), Truff (23), Zondek e Aschlemm (25), ecc., che dimostrano come lo studio degli effetti del tallio in Biologia animale sia molto progredito. Non altrettanto, invece, si è fatto per la flora e la microflora.

Per quanto riguarda l'azione sui Batteri si hanno esperienze di Ricket, Cardot e Bachrah (20) i quali, nel 1921, trovarono che i Batteri dell'acido lattico si adattano facilmente al Tl, essendo questa una proprietà specifica secondo gli AA. Non altrettanto bene si adatterebbero, invece, i Batteri dell'acido lattico, al cloruro mercurico.

Nell'anno successivo Buschke e Jacobson (6) trovarono che il tallio ha azione oligodinamica, analoga a quella del Cu e dell'Ag, su *Bact. coli*, *tiphoides*, *Shiga*, *ipsilon*, *Flechmer*, *Vibrio Metschnikoff*, *Staphilococcus aureus* e streptococchi, su agar a diversa composizione.

Secondo i surricordati AA. quest'azione si perderebbe con l'uso continuato di substrati al tallio quasi vi fosse una forma di adattamento anche allo stimolo da elementi oligodinamici.

Sempre secondo Buschke e Jacobson, l'azione tossica del carbonato di tallio per i Batteri sarebbe molto debole e non si avrebbero influenze selettive sullo sviluppo di Batteri da colture brute. La concentrazione inibente lo sviluppo batterico sarebbe per il detto sale di tallio quella dell'1 ‰.

Boas (1), nel 1929, suggeriva e sperimentava l'impiego del nitrato di Tl come mezzo di selezione tra Funghi (resistenti) e Batteri (non resistenti). Le concentrazioni da impiegarsi per quest'uso varierebbero tra 0,04 e 0,3 ‰.

Mc Cool (9), nel 1933, sperimentando l'effetto del solfato di tallio sui microbi nitrificanti trovava che questo sale non eserciterebbe influenza dannosa fino a concentrazioni dello 0,24 %.

Esperienze sui Funghi furono condotte da Morris (15), nel 1927, e nello stesso anno da Stover e Hopkins (22) i quali studiando l'azione tossica dei seleniti e telluriti su *Endotia parasitica*, trovarono che mentre molti sali dell'acido selenioso e dell'acido telluroso non erano tossici lo era invece il sale di tallio. Da questo essi potevano dedurre che l'effetto nocivo, che si verificava per concentrazioni da 0,05 N a 0,0005 N, eradovuto al metallo e non ai metalloidi sperimentati. La stessa azione trovavano i citati AA. per il *Bac. amylovorus*.

Burström (5), nel 1929, osservava che le spore di *Tilletia tritici* non sono capaci di germinare in soluzioni a concentrazione da $\frac{N}{10}$ a $\frac{N}{10.000}$ di cloruro di tallio.

Nell'anno successivo Fargher, Galloway e Probert (12) sperimentarono l'uso del carbonato di tallio per preservare il cotone ed i manufatti di cotone dalle muffe e cimentarono con questo composto vari Funghi: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium herbarum* e *Alternaria tenuis*.

Conidi di *Sclerotinia americana*, *Botrytis paeoniae*, *Pestalottia stellata* e uredospore di *Uromyces cariophillinus* furono trattate da Mc Callau e Vilcoxon (8), nel 1934, con Tl e con molti altri elementi per ricercarne l'influenza su detti Funghi in rapporto con il peso atomico e la posizione degli elementi stessi nel sistema periodico di Mendeleieff. I gruppi di elementi più dannosi sarebbero, secondo questi AA., quelli centrali del sistema e nei singoli gruppi la tossicità aumenterebbe con il peso atomico. Inoltre la forma di combinazione dei composti non influirebbe molto sulla loro tossicità. Gli elementi più attivi sarebbero: cesio, cadmio, stagno, tallio, cromo e arsenico.

Passando a descrivere le esperienze condotte sulle piante superiori dai diversi sperimentatori si trova che la maggior parte di esse è stata originata dall'uso delle esche avvelenate con il Tl per la lotta contro i topi ed i roditori in genere. Questa pratica, come quella dell'uso del Tl nella fabbricazione di cosmetici (depilatori) e nella cura di alcune malattie dell'uomo, hanno dato luogo ad una vasta bibliografia riguardante la biologia animale della quale ricordiamo incidentalmente i lavori di Bodnár e Terényi (2), Buschke, Zondek e Bermann (7), Mamoli (13), Munck e Silver (16), Olivier (18) Schander e Götze (21), Truff (23) e Zondek e Aschlemm (25).

Sulle piante superiori sperimentarono l'effetto del Tl: Dilling (10), nel 1926, Dilling e Healey (11), nello stesso anno, e Borzini (3), nel 1935, limi-

tandosi alla germinazione dei semi di molte specie di piante. Essi trovarono che concentrazioni, anche deboli, di sali di tallio ne diminuiscono, e per talune specie ne impediscono del tutto, la germinazione.

Borzini trovò anche che lo sviluppo e l'inverdimento delle plantule ottenute da semi trattati con solfato talloso sono notevolmente ostacolati.

Brooks (4), nel 1932, riferiva di avere osservato che in piantagioni di canna da zucchero presso Honolulu, nelle Hawai, nelle quali si distribuivano esche avvelenate con solfato di tallio, sia direttamente sul terreno che in appositi recipienti appesi agli alberi, il terreno in cui il Tl si diffondeva con le piogge presentava aree completamente prive di vegetazione. Ne deduce che gr. 0,5 di solfato di Tl sarebbero sufficienti ad impedire lo sviluppo di qualsiasi pianta in 1/2 piede cubico di terreno, cioè, all'incirca 20 Kg. di terra. Lo stesso Brooks mette in guardia gli agricoltori contro i danni che potrebbero derivare dall'uso continuato di queste esche al Tl_2SO_4.

Mc Murtrey (17) sperimentando applicazioni di nitrato di tallio su piante di Tabacco in vaso trovò, nel 1932, che mg/Kg. di terra 35-75 di questo composto erano tossici per dette piante ; la tossicità sarebbe, secondo questo A., maggiore nei terreni umidi nei quali lo stelo delle piante rimane ucciso al livello del suolo.

Il primo sintomo di avvelenamento da Tl nel Tabacco sarebbe, secondo Mc Murtrey, il ritardo nello sviluppo e la comparsa di aree di colore verde chiaro in vicinanza delle nervature, nelle foglie più alte. Le foglie più giovani si mostrerebbero clorotiche e si avrebbe la proliferazione di gemme avventizie con formazioni a tipo « scope di strega ». Tale forma di avvelenamento ricorderebbe molto la « Frenching » del Tabacco.

Mc Cool (9), nel 1933, sperimentando l'azione del solfato di tallio sulla vegetazione, stabilì che 2,1 a 8,5 p. p. m. di questo sale, in terreni a diversa costituzione, sono dannose allo sviluppo di : Fagiuolo, Medica, Frumento, Grano saraceno, Loglio, Mais, Pomodoro e Tabacco, non però nella stessa misura sulle varie specie, ma con leggeri scarti fra i diversi terreni. Le foglie di queste piante presentavano macchie giallastre o rossastre.

Passati così brevemente in rassegna i lavori comparsi sull'argomento, dai quali emerge che non è stata ancora molto studiata l'azione biologica del tallio, si espongono senz'altro i criteri informatori delle ricerche eseguite.

Anzitutto si volle indagare, con unità di indirizzo e di metodo, l'azione sulle piante e sui microrganismi. Inoltre si ricercò una eventuale azione endochemioterapica dell'elemento in esame.

Per lo studio si fece uso di due sali tallosi: il solfato (Tl_2SO_4) ed il nitrato (Tl_2NO_3).

Non fu possibile eseguire ricerche comparative su sali tallosi e tallici perchè non si riuscì ad avere questi ultimi dal commercio e, d'altra parte, la loro instabilità e la loro proprietà di precipitare dalle soluzioni acquose come anidride, avrebbero complicato lo studio e resi, forse, incerti i risultati.

2. — Parte sperimentale.

Le esperienze di cui si riferisce furono condotte su vegetali inferiori e superiori, a partire dai Batteri fino alle piante, sia erbacee che legnose.

Per maggior chiarezza di esposizione si incomincerà la trattazione dai Batteri per giungere, attraverso esseri vieppiù organizzati, fino alle piante arboree.

A) Azione del tallio sui Batteri.

Sui Batteri si sperimentò l'influenza di questo elemento sotto diverse condizioni e su colture brute come su colture pure.

Esperienza I. — Per constatare se il tallio avesse un potere tossico per i microrganismi altrettanto notevole che per le piante, si incominciò con lo studio di questo supposto potere tossico e, per raggiungere lo scopo, si allestirono tre beute, previamente sterilizzate vuote, da cc. 100, con gr. 50 di terreno, pestato e passato allo staccio. Alla beuta contrassegnata dal n. 1 si aggiunsero cc. 50 di acqua distillata, a quella n. 2 cc. 50 di soluzione 1 ‰ di solfato di tallio (1) ed alla n. 3 cc. 50 di soluzione 1 % dello stesso sale.

Il terreno usato per queste esperienze aveva la seguente composizione :

acqua igroscopica	5,92 %	sabbia	51,45 %
sostanza organica	1,91 %	argilla	40,72 %
calcare	tr.	pH	6,5

L'esame batteriologico iniziale del terreno stesso, eseguito con il metodo delle colture a piatto con agar-fagiuoli, rivelò il tasso microbico per grammo di materiale secco indicato nelle Tabelle che seguono.

Le beute, allestite come sopra, furono collocate in termostato a 24-26° C., chiuse con tappo di gomma sterilizzata in alcool e frequentemente agitate.

Dopo 1, 7 e 40 giorni si prelevò asetticamente 1 cc. di materiale da ciascuna beuta, si stemperò in un litro di acqua sterile e si allestirono delle colture a piatto con 1/10 di cc. di stemperamento. A parte, su un altro cm^3 di materiale, si determinò la terra secca.

I risultati ottenuti in queste ricerche sono esposti nella Tabella I (e nel grafico I, *A*), nella quale si riportano i valori desunti dalla conta delle colonie al 7° ed al 14° giorno di coltura a 24-26° C., calcolati su un grammo di terra secca. A questi si uniscono i risultati ottenuti dall'esame batteriologico dell'acqua distillata e delle due soluzioni di solfato di tallio usate per allestire l'esperienza, calcolati su 1 cc. di liquido.

---

(1) In questa, come in *tutte* le esperienze che seguono, le concentrazioni dei sali di tallio sono sempre riferite come Tl elemento.

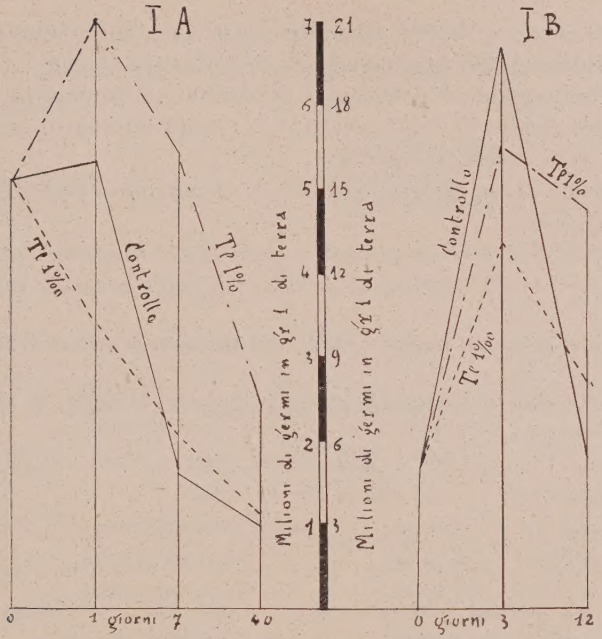


TABELLA I.

Conta dei germi nelle soluzioni, nel terreno e nel loro miscuglio
(germi in 1 gr. di materiale).

	Materiale esaminato	Conta al 7° giorno di coltura				Conta al 14° giorno di coltura			
		Batteri	Attinomiceti	Funghi	Totale	Batteri	Attinomiceti	Funghi	Totale
all'inizio	Terra	4.845.000	5.000	135.000	4.985.000	4.910.000	5.000	185.000	5.100.000
	Acqua distillata	910	—	370	1.280	2.640	—	660	3.300
	Soluzione Tl 1 ‰ . . .	1.225	—	85	1.310	1.450	—	90	1.540
	Soluzione Tl 1 %	1.285	—	—	1.285	2.255	—	—	2.250
dopo 1 giorno	Terra+acqua distillata . .	3.170.000	82.000	196.000	3.448.000	4.575.000	180.000	588.000	5.343.000
	Terra+soluzione Tl 1 ‰ .	2.451.000	—	359.000	2.810.000	2.859.000	—	555.000	3.414.000
	Terra+soluzione Tl 1 % .	5.228.000	—	131.000	5.359.000	6.797.000	16.000	245.000	7.058.000
dopo 7 giorni	Terra+acqua distillata . .	1.193.000	—	16.000	1.209.000	1.650.000	—	16.000	1.666.000
	Terra+soluzione Tl 1 ‰.	1.748.000	—	—	1.748.000	2.059.000	—	—	2.059.000
	Terra+soluzione Tl 1 % .	4.297.000	—	—	4.297.000	5.588.000	—	—	5.588.000
dopo 40 giorni	Terra+acqua distillata . .	621.000	—	195.000	816.000	719.000	16.000	229.000	964.000
	Terra+soluzione Tl 1 ‰.	635.000	—	65.000	700.000	1.046.000	—	131.000	1.177.000
	Terra+soluzione Tl 1 % .	1.585.000	—	33.000	1.618.000	2.467.000	—	49.000	2.516.000

Esperienza II. — Avendo ottenuto risultati tanto lontani da quelli che ci si attendevano nel presupposto di una elevata tossicità dell'elemento, si volle ripetere l'esperienza nelle stesse condizioni e con materiale di partenza identico al precedente. Si variò soltanto il tempo intercorso fra l'inizio dell'esperimento e la conta dei germi.

Nella Tabella II, (e nel grafico I, *B*), si espongono i risultati ottenuti da questa nuova prova.

TABELLA II.

Conta dei germi nel terreno trattato con soluzioni di solfato di tallio.

	Terra trattata con	Conta al 7° giorno di coltura				Conta al 14° giorno di coltura			
		Batteri	Attinomiceti	Funghi	Totale	Batteri	Attinomiceti	Funghi	Totale
dopo 3 giorni	Acqua distillata	11.993.000	—	5.000	12.009.000	20.392.000	—	16.000	20.408.000
	Soluzione Tl 1 ‰ . . .	9.641.000	—	—	9.641.000	13.382.000	—	—	13.382.000
	Soluzione Tl 1 %	14.428.000	—	—	14.428.000	16.765.000	—	5.000	16.770.000
dopo 12 giorni	Acqua distillata	6.454.000	—	5.000	6.459.000	5.555.000	—	10.000	5.565.000
	Soluzione Tl 1 ‰ . . .	6.209.000	—	—	6.209.000	8.268.000	—	—	8.263.000
	Soluzione Tl 1 %	11.438.000	—	—	11.438.000	14.706.000	—	—	14.706.000

Questa seconda esperienza pur avendo fornito cifre molto più alte della prima, in valore assoluto, ne ha dato però piena conferma per quanto riguarda la mancata azione tossica. Si può dedurre quindi dalle esperienze fin qui esposte, che il solfato di tallio, mescolato a terre di medio impasto, povere in calcare e sostanza organica, mantenuta imbevuta e ricoperta dalle soluzioni del detto sale nelle concentrazioni dell'1 % ed 1 ‰, non ne uccide i germi, quanto meno gli Schizomiceti, ma, anzi, ne favorisce la vita, specialmente nella concentrazione maggiore.

Il fenomeno si spiega anche per il fatto che il terreno, così trattato, adsorbe quasi completamente il sale di tallio e di questo si è avuta conferma filtrando, dopo agitazione, il liquido che era rimasto a contatto del terreno e saggiandone il contenuto in Tl mediante la reazione con KI. Il filtrato proveniente dalla soluzione 1 ‰ di Tl trattata con terreno non reagiva affatto con lo joduro, mentre normalmente la reazione è, per questa concentrazione, ancora ben netta; quello proveniente dalla concentrazione dell'1 % dava una reazione appena percepibile, dimostrando così che, per lo meno il 95 % del metallo, era rimasto adsorbito (o chimicamente fissato in composto insolubile) dal terreno.

Esperienza III. — Allo scopo di studiare più a fondo l'azione del Tl sui microbi del suolo si allestirono sette Erlenmeyer da cc. 100 con cc. 50 della soluzione seguente:

glucosio	20	solfato potassico	tr.
solfato ammonico	2	cloruro sodico	»
cloruro ferrico	0,2	acqua distillata	1000

A ciascun recipiente si aggiunse solfato di tallio in modo da raggiungere, nei cc. 50, le concentrazioni indicate nella Tabella III.

TABELLA III.

Conta dei germi in soluzioni nutritive addizionate di solfato di tallio
(numero di germi in cc. 1 di liquido).

	Tl mg/litro	Conta al 5° giorno di coltura				Conta al 10° giorno di coltura			
		Batteri	Attino-miceti	Funghi	Totale	Batteri	Attino-miceti	Funghi	Totale
Al 20° giorno	0 = controllo	3.070.000	—	46.000	3.116.000	3.620.000	—	113.000	3.733.000
	0,01	832.000	—	40.000	872.000	1.386.000	—	480.000	1.866.000
	0,1	2.020.000	—	6.000	2.026.000	2.652.000	—	6.000	2.658.000
	1,0	500.000	—	33.000	533.000	912.000	—	73.000	985.000
	10,0	300.000	—	13.000	313.000	326.000	—	13.000	339.000
	100,0	206.000	6.000	13.000	225.000	380.000	6.000	13.000	399.000
	1000,0	81.000	6.000	20.000	107.000	173.000	13.000	86.000	272.000
Al 40° giorno	0 = controllo	660.000	—	10.000	670.000	750.000	—	10.000	760.000
	0,01	860.000	—	30.000	890.000	930.000	—	50.000	980.000
	0,1	2.390.000	—	240.000	2.630.000	2.560.000	10.000	320.000	2.890.000
	1,0	3.340.000	10.000	30.000	3.380.000	3.670.000	20.000	50.000	3.740.000
	10,0	120.000	—	—	120.000	170.000	—	10.000	180.000
	100,0	100.000	—	—	100.000	130.000	—	—	130.000
	1000,0	340.000	—	60.000	400.000	350.000	—	60.000	410.000

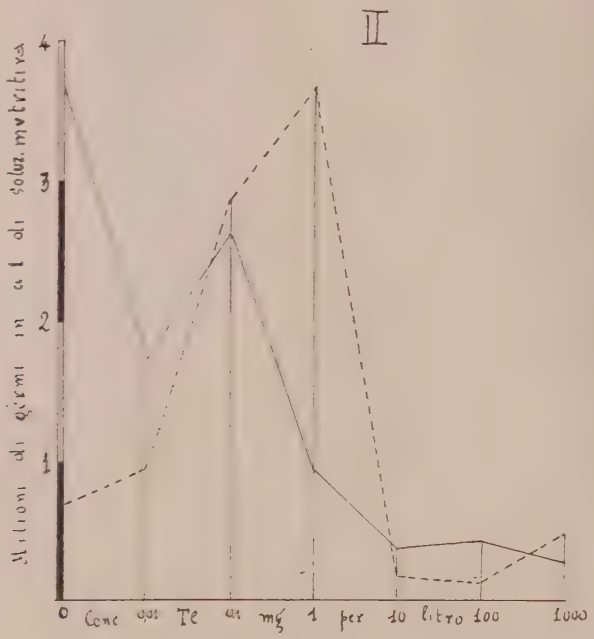
Dopo sterilizzazione si inoculò ciascuna beuta con cc. 1 di stemperamento, del terreno sopra ricordato, con acqua, a pesi uguali, e si collocarono tutti i recipienti in termostato a 24-26° C.

Al 20° ed al 40° giorno si allestirono colture a piatto per la conta dei germi nei vari liquidi, inoculandole con 1/10 cc. di diluizione 1/2000 dei liquidi stessi.

La conta delle colonie sviluppate nelle colture a piatto si eseguì al 5° ed al 10° giorno e se ne riportano i risultati nella Tabella III e nel grafico II

in cui la linea continua si riferisce ai valori trovati al 20° giorno e quella tratteggiata al 40° giorno.

L'effetto del tallio risulta ben chiaro dalla esperienza sopra descritta: è leggermente deprimente sullo sviluppo microbico, anche in dosi minimali (0.01 mg/litro) ma non impedisce lo sviluppo batterico, nelle condizioni di esperimento e per colture brute, fino a concentrazioni pari ad 1 mg/litro



(1 1.000.000); tant'è che questa concentrazione ha prodotto dapprima una notevole diminuzione nella carica batterica mentre più tardi, per un fenomeno comune a tutti i metalli, una parte del Tl è stato assorbito dai microrganismi, morti o sopravvissuti, ed allora è incominciata la proliferazione attiva, di questi ultimi, che ha riportato il numero di germi fino a quello iniziale.

È noto, infatti, che aumentando il numero di microrganismi nel liquido diminuisce la tossicità, o il potere antisettico, del metallo in esso disciolto, ove questo non sia in forte eccesso.

Quantunque, però, si sia scesi a concentrazioni minime di Tl nei liquidi di coltura, non si è mai avuta azione stimolante, ciò che appare singolare.

È da notare, inoltre, un altro fatto: che le forme batteriche rinvenute nei liquidi colturali, a più elevate dosi di tallio, erano in grande maggioranza sporigene.

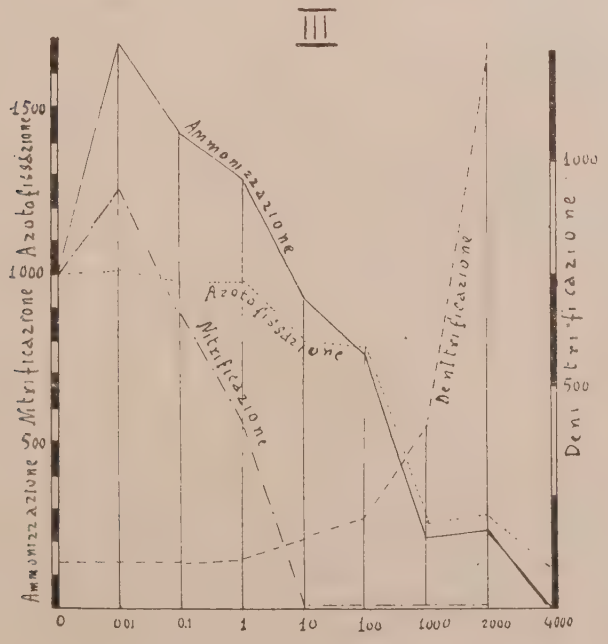
Il tallio, quindi, avrebbe azione antisettica e microbicida, in colture liquide, non però per tutte le specie batteriche, anche in liquidi contenenti glucosio, con il quale notoriamente esso si combina per dare complessi organometallici, per concentrazioni superiori a mg/litro 1 di tallio ione.

Esperienza IV. — Dopo aver saggiato il potere antisettico del tallio sulle colture brute si volle anche studiare il comportamento, di fronte a questo elemento, dei microrganismi preposti alle varie attività microbiochimiche del suolo.

Questa esperienza si riferisce appunto ad una di esse e precisamente alla ammonizzazione.

Una soluzione acquosa all'1,5 % di peptone si distribuì in provette, nella quantità di cc. 10 per ciascuna. Si inoculò con cc. 5 di stemperamento acquoso 1 : 10 della terra usata per le altre esperienze e si aggiunse solfato di tallio quanto bastava a portarne alle concentrazioni desiderate, comprese in un primo tempo fra 1/100.000 e 1/250. Non essendosi riscontrate concentrazioni oligodinamiche si vollero, in una esperienza successiva, saggiare concentrazioni più basse di quelle suesposte.

Per brevità riportiamo nella Tabella IV e nel grafico III i valori delle



due esperienze insieme, resi confrontabili facendo uguali a 1000 i controlli, i quali presentavano tra loro una netta differenza, essendo stata fatta l'ultima prova dopo circa un mese

Gli altri valori sono modificati in proporzione.

TABELLA IV.

Azione del tallio sui microbi ammonizzanti (media di prove in quadruplo).

Concentrazione di Tl mg/litro	Valori trovati (NH_3 mg/litro)	Valori corretti
0 = Controllo	430,8	1000
0,01	731,5	1693
0,1	612,5	1423
1,0	554,4	1291
10,0	396,0	920
0 = Controllo	758,0	1000
10,0	714,4	942
100,0	575,5	760
1000,0	160,2	211
2000,0	178,6	235
4000,0	0,0	0

L'effetto del solfato di tallio sui microrganismi putrefacenti è evidentissimo come appare dalla Tabella sopra esposta.

Fra quelle sperimentate, le tre concentrazioni caratteristiche (oligodinamica, indifferente ed inibente) sono, rispettivamente, quelle di 0,01, 10 e 4000 mg/litro. La concentrazione di mg/litro 10 è quella nella quale l'azione oligodinamica fa giusto equilibrio all'azione tossica.

Esperienza V. — Questa esperienza è volta a stabilire l'azione del Tl sul potere di denitrificazione del terreno.

A cc. 50 di liquido di Giltay, contenuto in beute da cc. 100, preventivamente sterilizzato, si aggiunse tanto solfato di tallio da ottenere le concentrazioni indicate nella Tabella V, e nel grafico III.

TABELLA V.

Azione del solfato di tallio sui microbi denitrificanti (media di prove in triplo).

Concentrazione di Tl mg/litro	Valori trovati (ore)	Valori corretti
0 = Controllo	64	100
0,01	64	100
0,1	64	100
1,0	75	117
10,0	97	152
0 = Controllo	33	100
10,0	47	143
100,0	66	200
1000,0	133	403
2000,0	408	1236
4000,0	∞	∞

Nella stessa Tabella, essendo stata compiuta l'esperienza in due momenti, si riportano, oltre i risultati espressi in ore occorse per la scomparsa dei nitrati, anche i dati corretti per i controlli fatti uguali a 100, onde poter confrontare i valori ottenuti nelle due serie.

Ogni beuta fu inoculata con cc. 10 di stemperamento acquoso di parti uguali di terra di giardino.

Mediante la reazione della difenilamina si saggiava periodicamente il liquido di ciascuna beuta fino alla scomparsa dei nitrati.

Fra le concentrazioni sperimentate non figurano altro che dosi più o meno tossiche o quanto meno indifferenti, ciò che sta ad indicare che i microrganismi riduttori dei nitrati non risentono l'azione oligodinamica del tallio.

Esperienza VI. — Sempre in tema di denitrificazione si volle indagare se, e fino a quale concentrazione, potesse verificarsi la riduzione del radicale nitrico legato al tallio.

Si allestirono perciò delle Erlenmeyer da cc. 100 contenenti cc. 50 di soluzione di Giltay, priva di nitrato potassico, e si aggiunse poi nitrato talloso in varie concentrazioni; si inoculò soltanto con 1 cc. di stemperamento acquoso 1 : 1 di terra di giardino, invece che con i 10 cc. usati normalmente, per evitare di portare troppa terra nel liquido.

Preventivamente era stata determinata la dose minima di $TlNO_3$ svelabile con la difenilamina, trovandola pari ad una concentrazione di poco inferiore allo 0,5 ‰.

Le concentrazioni sperimentate furono le seguenti: 1/2000, 1/1000, 1/500 ed 1/250 di Tl.

Naturalmente non si poteva adottare un unico controllo ma ne occorreva uno per ciascuna concentrazione. I controlli si stabilirono, con la stessa soluzione di Giltay, aggiungendo nitrato potassico in quantità stechiometricamente determinata rispetto al radicale nitrico.

Le ore occorse per la denitrificazione sono riportate nella Tabella VI che segue.

Tabella VI.

Denitrificazione del nitrato di tallio (media di prove in triplo).

Concentrazione di mg/litro	Nitrato di tallio ore	Controllo ore
500,0	167	41
1000,0	∞	41
2000,0	∞	50
4000,0	∞	96

Il nitrato talloso presenta una notevole resistenza all'attacco dei denitrificanti: nella concentrazione di mg/litro 500, infatti, occorsero 167 ore per la denitrificazione mentre, nella precedente esperienza, si è visto che, in presenza dell'1/1000 di Tl_2SO_4, si verifica in 133 ore la scomparsa dei nitrati dalla soluzione di Giltay pur essendovi questi contenuti in misura circa cinque volte superiore.

Con concentrazioni maggiori di mg/litro 500 di nitrato talloso, poi, non si verifica denitrificazione nè sviluppo di denitrificanti; il liquido rimane perfettamente limpido nè si nota sviluppo gassoso.

L'osservazione fu protratta per oltre 40 giorni, dopo di che si interruppe non essendosi ancora notato neppure intorbidamento del liquido.

Esperienza VII. — Questa esperienza si riferisce all'attività di nitrificazione dei microrganismi del suolo, in presenza di tallio. La sorgente di Tl usata fu il solfato talloso per evitare l'introduzione del nitrato nel liquido.

Le concentrazioni usate sono indicate nella Tabella VII e nel grafico III, in corrispondenza delle quantità di nitrati ottenuti dal solfato ammonico presente nel liquido di coltura. Quest'ultimo fu inoculato con cc. 1 di stemperamento acquoso di terra di giardino, nelle proporzioni di: 1 acqua/1 terra in peso.

TABELLA VII.

Azione del solfato di tallio sui microbi nitrificanti (media di tre prove).

Concentrazione di Tl mg/litro	HNO_3 mg/litro	Riferiti al controllo = 1000
0 = Controllo	200,0	1000
0,01	250,0	1250
0,1	176,0	880
1,0	113,0	565
10,0	1,2	6
100,0	1,0	5
1000,0	0,9	4
2000,0	1,0	5

I microrganismi nitrificatori, nelle condizioni sperimentate, sono sensibilissimi all'azione del Tl; una soluzione di mg. 0,1 per litro è già, per questi microrganismi, leggermente ostacolante mentre, come si è visto precedentemente, per gli ammonizzanti ed i denitrificanti occorre, per ottenere lo stesso effetto, raggiungere concentrazioni 100 volte superiori.

Le ragioni sono da ricercarsi, anzitutto, nella sensibilità propria e caratteristica di questo gruppo di microrganismi, in secondo luogo nella assenza di sostanza organica nel mezzo di coltura (quella introdotta con il materiale di inoculazione si può calcolare circa a mg. 6 per beuta), il che aumenta le qualità antisettiche dei metalli pesanti in particolar modo.

Le minime quantità di HNO_3 rinvenute nelle beute con concentrazioni da mg/litro 10-2000, che con piccoli scarti, si aggirano intorno ad 1 mg/litro, possono anche ritenersi derivare da impurezze dei reattivi e dell'acqua, da piccole quantità presenti nel materiale d'innesto e da nitrificazione per via puramente chimica.

Esperienza VIII. — L'attività azotofissatrice dei Batteri non simbionti, studiata in questa esperienza, ha dato i risultati che si espongono nella Tabella VIII. Questa attività fu studiata con la soluzione di Beijerinck (cc. 250) in due esperienze successive: nella prima si indagò l'effetto delle concentrazioni di Tl da 10 a 2000 mg/litro nella seconda, invece, quella da mg/litro 0,01 a 10.

Per brevità si riportano le due esperienze insieme, come si è fatto per l'ammonizzazione, riferendo i valori al controllo fatto uguale a 1000.

Il liquido di Beijerinck fu inoculato con cc. 20 di stemperamento acquoso 1:1 di terra di giardino il cui contenuto in azoto fu determinato a parte (azoto iniziale). L'assorbimento del sale di tallio da parte del materiale d'innesto

è stata, forse, la causa del mancato effetto oligodinamico del Tl sul processo e della sua non marcata tossicità.

Infatti dalla Tabella VIII e dal grafico III si rileva che, di fronte a concentrazioni da mg/litro 0,01 a 1, gli azotofissatori si dimostrano pressochè indifferenti; lieve effetto tossico hanno, invece, le concentrazioni di mg litro 10 e 100, quasi identico per entrambe; le concentrazioni di mg/litro 1000 e 2000 hanno invece effetto tossico ma non proporzionale alle concentrazioni stesse.

TABELLA VIII.

Azione del solfato di Tallio sui microrganismi azotofissatori.

Concentrazioni di Tl mg/litro	Azoto nelle colture			
	Iniziale mg.	Finale mg.	Guadagno	
			valori trovati mg/litro	valori corretti
0 = Controllo	10,30	45,96	142,45	1000
0,01	10,30	46,55	144,59	1013
0,1	10,30	44,97	138,70	978
1,00	10,30	45,01	138,85	979
10	10,30	37,12	107,27	807
0 = Controllo	9,50	45,16	142,63	1000
10	9,50	35,59	104,38	790
100	9,50	35,14	102,56	778
1000	9,50	11,38	7,53	252
2000	9,50	12,47	11,94	276

Esperienza IX. — Dopo aver studiato il comportamento dei microrganismi ammonizzanti, nitrificanti, denitrificanti e fissatori di azoto di fronte ai sali di tallio, si volle saggiare anche la resistenza a questo elemento presentata dai microrganismi cellulositici.

All'uopo si allestirono, con l'ormai nota tecnica di Winogradsky (27), alcune piastre al gelo silicico che si inocularono con terra di giardino dopo aver aggiunto soluzione nutritiva di Winogradsky addizionata di nitrato di Tl in dosi crescenti per ciascuna piastra.

Nella Tabella IX si riportano le concentrazioni di Tl sperimentate e le forme batteriche predominanti nelle colture.

Nè lo sviluppo complessivo, nè quello delle singole specie di cellulositici appare influenzato dalle dosi sperimentate di nitrato di tallio.

TABELLA IX.

Azione del nitrato di tallio sui microbi cellulositici.

Concentrazioni di Tl mg/litro nella soluzione di Winogradsky	Specie sviluppate
0 = Controllo	*Cellvibrio ochracea* Win
0,01	*Cellvibrio* sp.
0,1	—
1,0	*Cytophaga* sp.
10,0	—
100,0	—

Esperienza X. — Un'altra esperienza su colture brute è stata condotta sul potere respiratorio del terreno. Per queste prove ci si servì di una serie di otto beute da cc. 250 in cui si distribuirono cc. 100 di una soluzione di:

glucosio	40
peptone	1
acqua distillata	1000

Ciascuna beuta si inoculò con gr. 5 di terra di giardino asciugata all'aria, pestata e stacciata, in modo da avere un materiale quanto più possibile omogeneo. Le concentrazioni del Tl nei singoli recipienti sono indicate nella Tabella X e nel grafico IV in cui si riportano anche i risultati delle prove.

IV

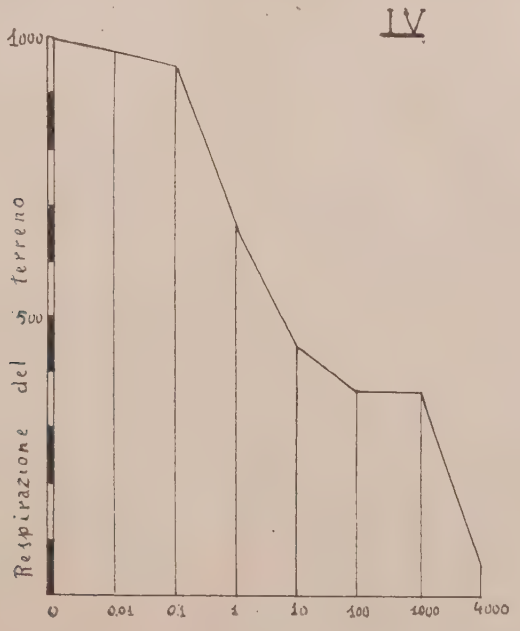


TABELLA X.

Azione del solfato di tallio sul potere respiratorio del terreno (CO_2 prodotta mg.).

Concentrazione Tl	0 = Controllo		0,01		0,1		1,0		10,0		100,0		1000,0		4000,0	
	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.
Dopo ore 24.....	113,4	—	91,7	—	87,6	—	72,4	—	46,9	—	20,6	—	49,1	—	0,0	—
» » 72.....	258,4	371,8	161,2	252,9	133,6	221,2	75,8	148,2	67,2	114,1	43,2	63,8	31,1	80,2	0,0	0,0
» » 120.....	226,2	598,0	220,1	473,0	218,4	439,6	120,8	269,0	78,2	192,3	107,2	171,0	49,8	130,0	0,0	0,0
» » 144.....	17,4	615,4	31,0	504,0	38,8	468,4	30,0	299,0	25,2	217,5	12,4	183,4	10,4	140,4	4,4	4,4
» » 168.....	11,2	626,6	104,8	608,8	102,6	571,0	20,8	319,8	60,4	277,9	43,0	226,4	80,2	220,6	26,8	31,2
» » 192.....	0,0	626,6	0,0	608,8	26,0	597,0	100,2	420,0	102,6	280,5	5,4	231,8	10,2	230,8	2,5	33,7
Media ore 24	78,25		76,0		74,62		52,50		35,0		28,97		28,85		4,12	
Media ore 1.....	3,26		3,17		3,11		2,19		1,46		1,21		1,20		0,17	
Riferiti al controllo = 1000.....	1000		971		953		670		447		370		368		52	

La determinazione del potere respiratorio si fece seguendo il metodo indicato da Perotti (19).

Nella Tabella X sono indicate le qualità di CO_2 parziali, cioè prodotte nell'intervallo tra due determinazioni, e quelle progressive, risultanti dalla loro successiva somma, espresse in mg; nelle ultime tre righe sono calcolate anche le produzioni medie di CO_2 nell'intervallo di 24 ore e di un'ora e riferite al controllo = 1000.

L'azione del tallio sul potere respiratorio del terreno è ben netta: anche le concentrazioni minimali esercitano effetto deprimente sullo sviluppo di CO_2 e ne ritardano l'inizio.

La concentrazione più alta fra quelle sperimentate non inibisce la decomposizione del glucosio ma la riduce a ben poca cosa.

Esperienza XI. — Con questa ricerca si è voluta portare l'indagine sullo sviluppo di alcune specie batteriche pure, in presenza di sali di tallio (solfato talloso).

Per questa esperienza, come per la maggior parte di quelle che precedono e che seguono, i risultati sono naturalmente relativi al mezzo di coltura usato in quanto non è possibile, per la grande maggioranza dei microrganismi, escludere le sostanze organiche dal substrato nutritivo, sebbene queste abbiano di norma la proprietà di ridurre il potere antisettico dei metalli pesanti per la formazione di complessi metallo-organici.

Comunque, in questo caso particolare, il fenomeno riveste meno importanza che in altre esperienze. Infatti, le prove eseguite hanno valore comparativo dovendo servire a stabilire, per le diverse specie batteriche, una scala di resistenza al Tl, il quale è somministrato a tutte le specie sotto una stessa forma, determinata dal mezzo di coltura.

Le specie batteriche cimentate e le concentrazioni di Tl sperimentate sono indicate nella Tabella XI. Il substrato usato per accertarne lo sviluppo era costituito da infuso di lievito ottenuto per digestione a caldo, e successiva filtrazione, di gr. 200 di lievito di birra del commercio in cc. 1000 di acqua. All'infuso di lievito si aggiunse il 2 % di glucosio e solfato di tallio quanto bastava a raggiungere le concentrazioni desiderate, allestendo anche prove di confronto con solfato di rame (calcolato in metallo).

Dai risultati ottenuti appare che la resistenza dei Batteri al Tl, come in genere a tutti i composti tossici, è varia con la specie.

Dal confronto con solfato di rame, si è visto che questo elemento è generalmente più tossico del Tallio, almeno per le specie batteriche prese in esame.

Le prove sui Batteri furono limitate a quelle sopra descritte.

TABELLA XI.

Azione dei solfati di tallio e di rame sullo sviluppo di alcune specie batteriche, in substrati liquidi.

Nome della specie	Concentrazione Tl ioni mg/litro									Conc. Cu ioni mg/litro			
	20	50	100	200	500	1000	2000	4000	10000	200	500	1000	2000
Bact. coli	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. mesentericus ruber.	+	+	+	+	±	—	—	—	—	+	—	—	—
Bact. phaseoli	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. sphaericus	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. tumefaciens	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	+	—	—
Micrococcus aurantiacus.	+	+	+	+	±	—	—	—	—	+	—	—	—
Bact. radicicola	+	+	+	+	—	—	—	—	—	±	—	—	—

B) Azione del tallio sui Funghi.

Per quanto riguarda questa azione si esporranno, anzitutto, le esperienze sui Blastomiceti, successivamente quelle sui Funghi a micelio.

Esperienza XII. — In una serie di otto Erlenmeyer da 250 cc. si distribuirono cc. 150 di mosto d'uva, si aggiunse solfato talloso in quantità diverse fino a raggiungere le concentrazioni indicate nella Tabella XII e si sterilizzò il tutto a vapore fluente per un'ora al giorno e per tre giorni consecutivi.

Il mosto usato aveva lo 0,6427 % di acidità totale espressa in acido tartarico ed un contenuto di zuccheri riduttori del 7,566 %. Essendo sembrata molto scarsa la percentuale di zuccheri riduttori si aggiunse ancora il 12,434 % di glucosio puro in modo da portare gli zuccheri al 20 %. Il peso specifico del mosto, che era inizialmente di 1,0416, si portò, dopo l'aggiunta del glucosio, ad 1,0848.

Dopo sterilizzazione il mosto si inoculò con una abbondante ansata di coltura di *Sacch. ellipsoideus* Hansen e si coltivò a 24-26° C. per 20 giorni, confrontandone periodicamente lo sviluppo di gas onde trarne qualche deduzione circa l'andamento della fermentazione.

Al 20° giorno dall'inoculazione si determinò l'acidità totale e l'alcool nei diversi campioni.

I risultati delle osservazioni e delle analisi sono riferiti nella Tabella XII e nel grafico V.

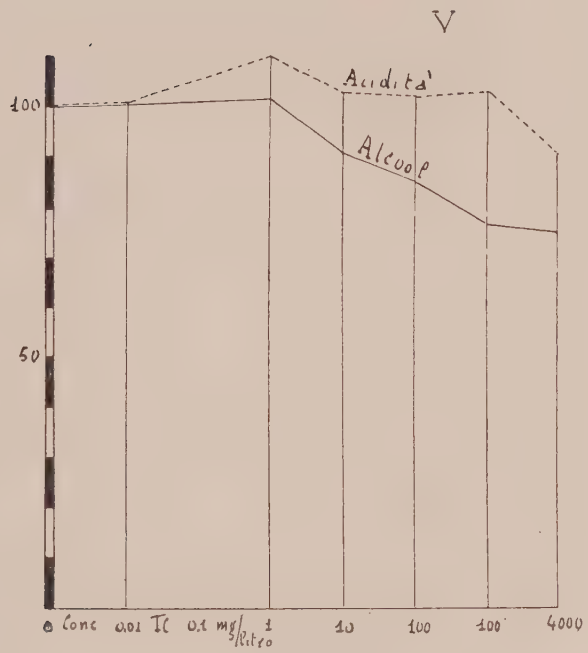


TABELLA XII.

Azione del solfato di tallio nella fermentazione del mosto d'uva.

Concentrazione Tl mg/litro	Sviluppo di gas dopo ore									Determinazioni al 20° giorno			
	12	24	36	48	60	72	84	96	288	Acidità totale % in acido tartarico	Riferita al controllo = 100	Alcool % in volume	Riferito al controllo = 100
0 = Controllo	+	+	++	++	++	++	++	++	++	0,810	100	8,40	100
0,01	++	++	++	+++	++	++	++	++	+	0,825	101	8,57	102
0,1	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	?	?	?	?
1,0	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0,896	110	8,71	103
10,0	—	—	++	+++	+++	+++	+++	++	+	0,832	103	7,66	91
100,0	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0,828	102	7,25	86
1000,0	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	+	0,839	103	6,50	77
4000,0	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	0,757	90	6,34	75

Da detta Tabella si rileva, anzitutto, che anche la concentrazione massima sperimentata (1/250 di Tl ione) non ha una tossicità tale da inibire il processo di fermentazione del mosto d'uva per attività del *Saccharomyces ellipsoideus* ;

in secondo luogo che aggiunte di solfato di Tl anche in dosi elevate non sempre ritardano l'inizio del processo in esame ; infine che, passato un certo numero di ore, il processo si compie più rapidamente in presenza che in assenza di Tl Il controllo senza Tl dette uno svolgimento di gas più uniforme e più prolungato.

Dall'analisi finale del mosto fermentato, poi, si deduce che il solfato di tallio non ha una influenza molto marcata sulla produzione di acidità mentre qualche effetto vantaggioso avrebbe, per dosi comprese fra 1/100.000.000 ed 1/1.000.000, sulla produzione di alcool ; al di là di questa concentrazione le quantità di alcool prodotte entro il 20° giorno di fermentazione decrescono sensibilmente ma non si annullano.

Esperienza XIII. — Questa esperienza, compiuta su Blastomiceti in coltura pura, ha lo scopo di stabilire le massime concentrazioni di Tl tollerate dalle specie cimentate, sempre con riserva per quanto si riferisce alle reazioni secondarie del mezzo.

Il liquido di coltura era costituito come si è detto a proposito dei Batteri (esperienza XI) da infuso di lievito, zuccherato ed addizionato di Tl_2SO_4.

Nella Tabella XIII si indicano le concentrazioni e le specie prese in esame ed i risultati relativi, confrontati con quelli ottenuti su $CuSO_4$.

Tabella XIII.

Azione dei solfati di tallio e di rame sullo sviluppo di alcuni lieviti, in substrati liquidi.

Nome della specie	Concentrazioni in ioni Tl mg/litro								Concentrazioni in ioni Cu mg/litro			
	20	50	100	200	500	1000	2000	4000	200	500	1000	2000
Sacch. Mangini Guill.	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—
Sacch. ellipsoideus Hansen	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	—
Torulopsis albida (Saito) Lodder	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—

Anche per i Blastomiceti la resistenza al metallo in esame sembra collegata alla specie ; così pure quella al rame : solo il *Sacch. ellipsoideus*, fra le tre forme sperimentate, si è dimostrato capace di sviluppo in substrati all'1 ‰ di Cu ione.

È notevole la differenza di resistenza al Tl, rilevabile dal confronto fra questa esperienza e la precedente, nei riguardi del *Sacch. ellipsoideus* : nel mosto d'uva non si è riusciti ad impedirne non solo lo sviluppo ma anche la

piena funzionalità, con 4000 mg litro di metallo mentre in infuso di lievito bastano concentrazioni 10-20 volte minori per riuscirvi. Questo basta a mettere in rilievo l'importanza del fattore mezzo in esperienze di questo genere.

Esperienza XIV. — Passando allo studio degli effetti del sale di Tallio sugli Ifomiceti si volle anzitutto studiarli sulla germinazione delle loro spore.

Questa si ricercò portando una goccia di sospensione di liquidi contenenti le volute quantità di tallio, su un coprioggetti e rovesciando questo su un porta oggetti incavato lutato con olio di paraffina ai bordi dell'incavo.

Periodicamente si osservavano i preparati al microscopio per verificare la germinazione delle spore.

Le ricerche condotte su *Aspergillus glaucus* Link e *Penicillium crustaceum* Fries dimostrarono (vedi Tabella XIV) che le spore di questi Funghi non germinano anche se si diluisce il nitrato di Tl fino ad avere una concentrazione del metallo dell'1,5000, in acqua distillata, mentre esse germinano in più o in meno elevata percentuale in acqua distillata pura (controllo).

TABELLA XIV.

Germinazione di spore di Funghi in presenza di nitrato di tallio.

FUNGO	Percentuale di spore germinate in soluzioni di															
	Acqua distillata dopo ore				$TlNO_3$ 1/5000 di Tl dopo ore				$TlNO_3$ 1/2000 di Tl dopo ore				$TlNO_3$ 1/1000 di Tl dopo ore			
	12	24	39	54	12	24	39	54	12	24	39	54	12	24	39	54
Aspergillus glaucus Link	20	20	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Penicillium crustaceum Fries. . . .	80	80	80	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Esperienza XV. — Per accertare se lo sviluppo di Funghi possa avvenire su substrati addizionati di tallio in varie concentrazioni, si allestirono delle serie di tubi contenenti agar-fagiuoli con nitrato talloso, lasciati solidificare in posizione inclinata.

Le serie, che comprendevano concentrazioni tra mg litro 13,3 e 10.000, (1/75.000 a 1/100) furono inoculate con Ifomiceti.

Anche per questi, come per i Blastomiceti ed i Batteri, si volle fare il confronto fra il comportamento con nitrato di tallio e con solfato di rame. È da osservare però che con il solfato di rame si hanno inconvenienti, dovuti alla riduzione e alla precipitazione del metallo in presenza di zucchero, durante la sterilizzazione.

TABELLA XV.

Sviluppo di Funghi in presenza di solfati di tallio e di rame.

FUNGO	Concentrazioni di Tl ioni mg/litro							Concentrazioni di Cu mg/litro
	13,3	33,3	66,6	133	200	400	1000	1000
Alternaria tenuis Nees . . . . . ceppo 1	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 2	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 3	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 4	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 5	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 6	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . . . . » 7	+	+	+	+	+	+	—	+
» *macrospora* Zimm. . . » 8	+	+	+	+	+	+	—	+
Aspergillus niger V. Tiegh.	+	+	+	+	—	—	—	+
» sp.	+	+	±	—	—	—	—	+
Cephalosporium acremonium Cda ceppo 1	+	+	+	+	—	—	—	+
» » » 2	+	+	+	+	+	—	—	+
Cladosporium herbarum Link . . » 1	+	+	+	+	+	+	—	+
» » » . . » 2	+	+	+	+	+	+	—	+
Fusarium heterosporum Nees.	+	+	±	—	—	+	—	+
Micelium sterile . . . . . ceppo 1	+	+	+	+	±	—	—	+
» » . . . . . » 2	+	+	+	+	—	—	—	+
» » . . . . . » 3	+	+	±	—	—	—	—	+
» » . . . . . » 4	+	+	+	+	—	—	—	+
» » . . . . . » 5	+	+	+	+	+	+	—	+
Fusidium (*Oospora*) *oryzae* (Ferr.) Luchetti	+	+	+	±	+	—	—	+
Penicillium crustaceum Fries	+	+	+	±	—	—	—	+
Phoma sp.	+	+	+	+	+	+	—	+
Rhizopus nigricans Ehrenb.	+	+	+	±	—	—	—	+
Septoria nodorum Berk. . . . . ceppo 1	+	+	+	+	+	+	—	+
» » . . . . » 2	+	+	+	±	—	—	—	+

I risultati ottenuti in questa esperienza sono riportati nella Tabella XV.

Alla fine dell'esperienza si osservarono i caratteri micromorfologici dei Funghi in esame per accertare eventuali modificazioni di una qualche importanza.

L'osservazione si limitò ad una coltura per ciascun ceppo e, più precisamente, a quella sul substrato contenente maggiori quantità di tallio fra quelle che avevano dato luogo a sviluppo del Micete.

I rilievi si fecero comparativamente su questo substrato e su agar-fagiuoli.

Si constatò, anzitutto, un fatto di ordine pressochè generale e cioè che, nelle colture in presenza di tallio nitrato, si ha spiccata tendenza alla formazione di gocciole di grasso nell'interno del micelio. Inoltre molti Funghi, fra quelli sperimentati, presentavano un micelio di diametro sensibilmente maggiore nella coltura con tallio che in quella su agar-fagiuoli normale. Nella Tabella XV-*bis*, che segue, si riportano le dimensioni minime, massime e medie del micelio, riscontrate sui due differenti substrati.

TABELLA XV-*bis*.

Variazioni nelle dimensioni del micelio di Funghi coltivati in presenza di nitrato di tallio.

SPECIE DEL FUNGO	Diametro del micelio μ					
	Su agar al tallio			Su agar senza tallio		
	Minimo	Medio	Massimo	Minimo	Medio	Massimo
Alternaria tenuis . . . . . ceppo 1	1,5	3,3	5,1	2,0	2,65	3,3
» » . . . . . » 3	2,0	3,0	4,0	2,0	2,65	3,3
» » . . . . . » 5	2,0	3,4	4,8	2,5	2,75	3,0
» » . . . . . » 6	2,0	4,2	6,4	2,1	3,85	5,6
» *macrospora* . . . » 7	1,5	2,5	3,5	1,2	1,85	2,5
Aspergillus niger	1,5	6,5	11,5	1,3	3,2	4,1
Fusarium heterosporum	5,1	6,35	7,6	4,2	5,0	5,8

Passando alla descrizione delle singole colture si rileva che molti Funghi non sporificarono, pur avendo formato micelio talvolta anche molto abbondante, nelle concentrazioni maggiori. Così ad esempio il *Fusarium* il quale, non formò neppure clamidospore mentre, di norma, ne produce molte sui comuni agar. Il feltro micelico presentava aspetto lanoso e colore bianco-candido mentre di norma assume colorazione rosea intensa.

L'osservazione più interessante, però, fu quella fatta su *Aspergillus niger* il quale, nelle colture a concentrazioni maggiori di nitrato di tallio, non produsse spore ma sclerozi neri, del diametro di mm. 0,2-0,5 al 20° giorno di coltura, ciò che non si verificò su altri substrati sui quali si coltivò questo stesso ceppo (per esempio su agar all'acido borico ed al borato sodico nelle concentrazioni massime tollerate).

In appendice a queste esperienze sui Funghi si richiama l'attenzione sui risultati delle esperienze I e II dai quali emerge che, nelle condizioni di esperimento, non si può ritenere che questo elemento abbia un potere di selezione dei Funghi rispetto ai Batteri. Risulterebbe, anzi, proprio il contrario.

Con ciò non si intende di mettere in dubbio i risultati ottenuti da Boas (l. c.) in quanto non si sono ripetute le esperienze nelle stesse condizioni ma si vuole mettere in rilievo il fatto che tale potere selettivo non ha valore assoluto essendo soggetto all'influenza delle condizioni di esperimento.

C) Azione del tallio sulle Alghe.

Esperienza XVI. — In una soluzione minerale costituita da (1):

nitrato potassico	1
fosfato ammonico	0,5
acqua di condottura	1000

distribuita in piccoli vasi esposti alla luce diffusa, in serra, ed addizionata di quantità crescenti di nitrato di tallio, si portarono alcuni filamenti di *Spirogyra* sp. e si coltivarono per circa 60 giorni a temperatura variabile da 13° a 28° C.

Al termine dell'esperienza si valutò macroscopicamente lo sviluppo raggiunto dalle Alghe nelle diverse concentrazioni di Tl, assegnando a ciascuna coltura un valore compreso fra 0 e 10, proporzionalmente allo sviluppo e considerando come valore 10 quello della coltura in cui più abbondante era stata la produzione di filamenti.

Per essere certi dei valori ottenuti, questa esperienza fu ripetuta una seconda volta usando la stessa tecnica.

Nella Tabella XVI si riportano i valori ottenuti nelle due esperienze successive indicandoli come esperienza XVI e XVI-*bis*.

Tabella XVI.

Azione del nitrato di tallio sullo sviluppo di Spirogyra sp.

Concentrazione in ione Tl	Esperienza XVI	Esperienza XVI *bis*
0 = Controllo	10	9
0,01	10	10
0,1	8	5
1,0	7	3
10,0	1	1
100,0	0	0
500,0	0	0
1000,0	0	0

(1) Le ragioni per le quali si adottò questa soluzione si esporranno nelle esperienze riguardanti l'azione dei sali di tallio sulle Fanerogame.

Le Alghe non risentono, quindi, azione stimolante dalla presenza di quantità anche minime di nitrato di tallio mentre ne risentono l'azione tossica anche per concentrazioni non molto elevate.

Infatti, dosi pari a 100 mg/litro di Tl ione inibiscono completamente lo sviluppo della *Spirogyra* sperimentata ; azione molto simile ha anche la dose di 10 mg/litro mentre già 1 mg/litro è capace di ridurre il suo sviluppo a metà circa di quello che si verifica in assenza di Tl.

A complemento delle osservazioni macroscopiche sopra riportate si eseguirono anche indagini sulle eventuali modificazioni citologiche derivate dall'immersione di filamenti di *Spirogyra* sp. in soluzioni di solfato di T. contenenti mg/litro 0-0-01-1-100-1000-10.000 di Tl. Dopo 1, 3 e 20 giorni si estrassero alcuni filamenti dalle soluzioni e si osservarono al microscopio per studiarne la struttura. Nessuna modificazione si osservò dopo 24 ore mentre al terzo giorno a partire dalla concentrazione di mg/litro 1000 si osservavano interruzione e deformazione della banda clorofilliana, irregolare disposizione della stessa ed ingrossamento dei pirenoidi con aumento anche del loro numero oltrechè del volume. Il protoplasma invece presentava granulazioni che non avevano riscontro in quello dei filamenti immersi in acqua distillata. Inoltre nell'interno delle cellule si riscontravano punti neri dovuti forse alla scomposizione del solfato talloso con deposizione, per precipitazione, di anidride tallosa. Al 20° giorno l'Alga in esame presentava ancora il quadro sopra descritto.

D) Azione del tallio sulle Fanerogame (1).

L'effetto dei sali di tallio sulle piante superiori fu studiato sotto diversi punti di vista che si espongono brevemente.

Anzitutto si estesero le esperienze condotte da Borzini (1. c.) sulla germinazione dei semi, quindi si ricercò l'azione su plantule di frumento, in condizioni che saranno esposte nelle singole esperienze ; inoltre si studiò l'azione sull'intero ciclo vegetativo delle piante ed infine si inocularono attraverso il tronco di piante legnose adulte, soluzioni a diverse concentrazioni di tallio per osservare gli effetti, sia sull'albero stesso che su suoi eventuali parassiti vegetali o animali.

(1) Durante le esperienze che seguono non furono eseguite analisi di tallio nelle piante trattate perchè, avendo usato costantemente soluzioni molto diluite di composti tallosi le ricerche avrebbero presupposto l'uso di micrometodi la cui applicazione è delicatissima e non sempre è sicura. D'altra parte l'aumento di lavoro richiesto dall'analisi di un forte numero di piante sarebbe stato troppo impari ai risultati che si sarebbero ottenuti. Inoltre non vi è motivo di pensare che il Tallio non sia assorbito dalle piante, dal momento che gli effetti ne sono stati evidentissimi.

Esperienza XVII. — Per questa esperienza si fecero germinare in capsule Petri, chiuse, del diametro di mm. 180, semi di varie piante, in presenza di soluzioni di tallio a concentrazione varia.

I semi presi in esame furono i seguenti: Frumento, Mais, Fava, Fagiuolo e Zucca. I risultati ottenuti e le concentrazioni sperimentate sono riferiti nelle Tabelle XVII-*A* a XVII-*F*.

TABELLA XVII-A.

Influenza del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi di Frumento « Mentana ».

Concentrazione di Tl ione %	Numero dei semi germinati dopo giorni									Germinazione %
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0 = Controllo	32	361	390	393	396	401	407	407	412	91
0,075	0	170	229	251	260	273	276	279	279	62
0,150	0	100	129	152	156	162	165	165	165	37
0,300	0	73	75	84	89	103	109	111	111	
0,400	0	13	28	36	36	52	54	55	55	12
0,450	0	20	31	35	36	48	48	52	52	12
0,500	0	8	15	18	19	29	29	29	29	7

Le prove di germinazione, per le quali si usò Frumento della varietà « Mentana », si fecero su 450 semi per ciascuna concentrazione. Nel corso delle esperienze si poterono fare le seguenti constatazioni:

1° le radichette, nelle piastre con soluzioni di tallio, presentavano l'inversione, talora anche completa, del geotropismo e si ripiegavano verso l'alto quasi a sfuggire il contatto con la carta da filtro imbevuta del composto;

2° nelle concentrazioni maggiori di $TlNO_3$ le radichette imbrunivano e si necrotizzavano;

3° in molti semi, a contatto di Tl, si arrestava lo sviluppo della radichetta ma proseguiva quello della piumetta;

4° nelle scatole Petri con le dosi più elevate di Tl i semi dopo pochi giorni di contatto cominciavano ad imbrunire fino a che divenivano completamente neri, di un bel nero lucente; questi semi solo eccezionalmente germinavano;

5° lo sviluppo di muffe non era arrestato da alcuna delle concentrazioni sperimentate. Dopo qualche giorno si aveva sviluppo di muffe pressochè nella stessa misura in tutte le scatole.

A questo proposito, anzi, l'osservazione microscopica delle forme fungine sviluppate nelle scatole Petri del controllo ed in quelle della concentrazione dello 0,15 % dette i seguenti risultati:

a) in assenza di Tl, forme presenti: *Aspergillus* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Trichotecium roseum*, *Botrytis* sp.

b) in presenza di Tl, forme presenti: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp.

Al 12° giorno, quando ormai non germinavano più semi, si prelevò, dalle varie concentrazioni di $TlNO_3$, un certo numero di semi non germinati ma tuttora sani, ed altri in cui lo sviluppo dell'embrione si era arrestato da qualche giorno, si lavarono accuratamente per asportare ogni traccia di soluzione di $TlNO_3$ aderente all'epidermide e si portarono in altre capsule su carta bibula imbevuta di acqua distillata. Non si ebbe alcun cambiamento. Nè germinarono i semi che non erano germinati prima, nè riprese lo sviluppo dell'embrione: i semi e gli embrioni erano ormai morti.

I risultati ottenuti sono difficilmente confrontabili con quelli di Borzini, anzitutto perchè questo A. ha sperimentato il *Triticum aestivum* var. *durum* ed inoltre perchè sono diverse le scale di concentrazione usate (0,007 a 0,25 % nel lavoro di Borzini) ed anche il composto talloso usato (Borzini, solfato), quantunque, secondo gli AA. non vi siano differenze fra le proprietà tossiche dei due sali. Ciononostante sembrerebbe che nelle condizioni e per la varietà sperimentata dal predetto A. si abbia una minore tossicità. Infatti, ad una germinazione del 76 % con 0,08 % di solfato talloso e del 56 % con lo 0,25 % trovato da Borzini corrispondono, nelle esperienze sopra riportate, germinazioni del 62 % e del 25 % rispettivamente con 0,075 % e 0,30 % di ione Tl.

TABELLA XVII-*B*.

Azione del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi di Mais.

Concentrazione in ione Tl %	Numero semi germinati dopo giorni						Germinazione %
	5	6	7	8	9	10	
0 = Controllo	0	22	58	76	80	80	80
0,075	0	5	21	38	40	40	40
0,150	0	0	5	7	10	10	10
0,300	0	0	0	0	0	0	0
0,400	0	0	0	0	0	0	0
0,450	0	0	0	0	0	0	0
0,500	0	0	0	0	0	0	0

Per il Mais si posero in ciascuna scatola Petri 100 semi. Nella Tabella XVII-*B* si riportano i risultati.

I fatti più salienti notati durante la germinazione di questi semi furono gli stessi osservati per quelli di Frumento.

Delle Monocotiledoni non si sperimentarono altri semi; si studiò, invece, la germinazione in presenza di tallio, per alcune Dicotiledoni: di queste si passa a riferire.

Sui semi di Fava si sperimentò, nelle stesse condizioni di cui sopra, usando per ciascuna concentrazione 100 semi della varietà comunemente nota sotto il nome di « favetta » o « favino » (*Vicia faba* L. var. *equina* Pers.). Le osservazioni dei semi germinati non si fecero giornalmente ma ad intervalli di 3-4 giorni, data la lentezza con cui questi germinano. I risultati sono esposti nella Tabella XVII-*C*.

TABELLA XVII-*C*.

Azione del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi di Fava.

Concentrazione in ione Tl %	Numero semi germinati dopo giorni									Germinazione %
	6	10	12	15	18	21	25	29	31	
0 = Controllo	64	78	88	89	91	91	91	91	91	91
0,075	0	24	49	62	75	81	85	89	89	89
0,150	0	16	42	55	70	75	83	85	85	85
0,300	0	16	31	39	51	58	71	71	71	71
0,400	0	6	18	33	43	45	54	65	65	65
0,450	0	5	11	20	34	40	45	56	56	56
0,500	0	4	11	16	33	39	50	52	52	52

Nulla di particolare da osservare, su questa prova, oltre il frequente arresto di sviluppo della radichetta, seguito da necrosi, nelle soluzioni più concentrate.

Per il Fagiuolo si prese in esame la varietà comunemente nota sotto il nome di « tondino » (1), a semi piccoli, tondeggianti.

La germinazione fu osservata giornalmente e fu sperimentata su 200 semi per ciascuna concentrazione.

I risultati sono esposti nella Tabella XVII-*D*.

(1) Per quanto riguarda la varietà vedere esperienza XX.

TABELLA XVII-*D*.

Azione del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi di Fagiuolo.

Concentrazione in ione Tl %	Numero dei semi germinati dopo giorni								Germinazione %
	3	4	5	6	7	8	9	10	
0 = Controllo	0	5	12	191	191	191	191	191	95
0,075	0	1	7	168	187	190	191	191	95
0,150	0	0	4	162	171	171	171	171	85
0,300	0	0	1	138	145	145	149	149	74
0,400	0	0	0	103	110	110	112	112	56
0,450	0	0	1	90	96	96	98	98	49
0,500	0	0	1	92	98	98	101	101	50

Le osservazioni condotte sullo sviluppo degli embrioni permette di giungere alla conclusione che, a partire dalla concentrazione minima fra quelle sperimentate, il nitrato di tallio deprime lo sviluppo specialmente della radichetta.

Nel controllo, senza Tl, infatti, alla fine dell'esperienza, le radichette di quasi tutti i semi avevano emesso anche numerose radici secondarie mentre con concentrazioni di Tl da 0,075 % a 0,15 % ciò si verificava solo eccezionalmente su pochi semi e con concentrazioni da 0,3 % a 0,5 % non si verificò mai.

I valori ottenuti in questa esperienza, confrontati con quelli di Borzini, (sempre con riserva per quanto riguarda la forma di combinazione dell'elemento e la varietà del seme) li confermano a meno di una resistenza di poco maggiore nelle condizioni qui descritte.

Infatti, la stessa percentuale di germinazione (rispetto al controllo) che Borzini ha ottenuto con lo 0,25 % di Tl_2SO_4 si è riscontrata nell'esperienza riferita con lo 0,400 % di Tl (circa 0,5 % riportato a Tl_2SO_4).

Un fatto notevole notato in questa esperienza fu la comparsa di una colorazione, dapprima rosea poi rossa intensa, nei semi di Fagiuolo.

Di questo si tratterà al termine del presente lavoro del quale costituirà un capitolo a parte.

Resta da esporre il comportamento dei semi di Zucca in presenza di nitrato di tallio. Per questa prova si distribuirono in scatole Petri le soluzioni del sale alle concentrazioni già citate e si disposero in ogni scatola 50 semi di Zucca, di cui giornalmente si osservò la germinazione traendone i risultati di cui alla Tabella XVII-*E*.

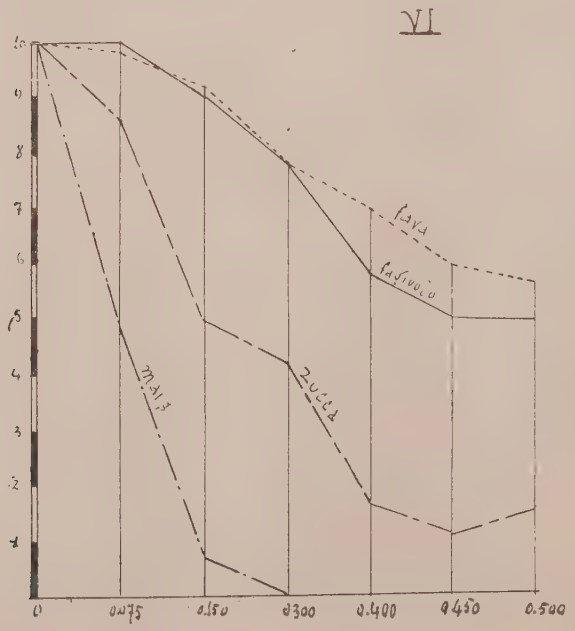
TABELLA XVII-*E*.

Azione del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi di Zucca.

Concentrazione in ione Tl %	Numero dei semi germinati dopo giorni							Germinazione %
	5	6	7	8	9	10	11	
0 = Controllo	2	5	17	29	35	36	36	72
0,075	1	9	14	27	27	31	31	62
0,150	1	2	5	11	17	18	18	36
0,300	0	3	7	13	13	15	15	30
0,400	0	1	1	3	5	6	6	12
0,450	1	1	1	2	4	4	4	8
0,500	0	2	3	5	5	6	6	12

Riassumendo in un quadro complessivo le ricerche di cui si è riferito circa la germinazione dei semi si nota che la resistenza al nitrato di tallio, per le piante sperimentate, decresce nell'ordine:

1° Fava (*Vicia faba* L. var. *equina* Pers.);
2° Fagiuolo (*Phaseolus vulgaris* L. var. *sphaericus*);



3° Zucca (*Cucurbita maxima* Duch.);
4° Frumento (*Triticum vulgare* Vill.) (var. Mentana);
5° Mais (*Zea mays* L.).

Ciò risulta anche dalla seguente Tabella XVII-*F* e dal grafico VI in cui le germinazioni dei semi nelle soluzioni a diversa concentrazione di $TlNO_3$ sono riferite al controllo fatto uguale a 100.

Come era già risultato dalle esperienze di Borzini sembra che le Dicotiledoni abbiano, in media, una maggior resistenza delle Monocotiledoni all'azione tossica del Tl, per quanto riguarda in special modo la germinazione dei semi nelle condizioni esperimentate.

TABELLA XVII-*F*.

Azione del nitrato di tallio sulla germinazione dei semi.

Concentrazione in ione Tl %	Fava	Fagiuolo	Zucca	Frumento	Mais
0 = Controllo	100	100	100	100	100
0,075	98	100	86	68	50
0,150	93	90	50	41	8
0,300	78	78	42	27	0
0,400	71	59	17	13	0
0,450	61	51	11	13	0
0,500	57	52	17	8	0

Esperienza XVIII. — In questa esperienza si ricercò l'effetto del solfato di tallio sullo sviluppo di plantule di Frumento. In scatole Petri col fondo ricoperto di carta da filtro imbevuta di acqua, furono messi a germinare semi di Frumento della varietà « Damiano Chiesa » e vi si tennero fino a che non ebbero raggiunto uno sviluppo in altezza di circa mm. 50, in media. A questo punto si scelsero 150 plantule della stessa altezza e si divisero in sei gruppi di 25 ciascuno.

Ogni gruppo di plantule fu portato su una scatola Petri, aperta, e si aggiunsero cc. 40 di acqua distillata alla prima ed alle successive, di soluzioni di Tl_2SO_4 alle concentrazioni indicate nella Tabella XVIII. Giornalmente si esaminarono le piante per notare i disturbi e per eliminare quelle eventualmente morte, oltrechè per ripristinare, con acqua distillata, all'incirca il volume primitivo di liquido nel fondo delle scatole.

Si riporta nella Tabella XVIII il numero delle piante sopravvissute al 5°, 7°, 8° e 9° giorno di coltivazione dopo il trapianto.

TABELLA XVIII.

Azione del solfato di tallio su plantule di Frumento.

Concentrazione in ione Tl %	Plantule sopravvissute dopo giorni			
	5	7	8	9
0 = Controllo	25	25	25	25
0,075	23	23	23	0
0,150	19	11	7	0
0,300	16	8	3	0
0,400	10	4	2	0
0,500	7	3	1	0

Circa i sintomi di disturbo si osservò che mentre nel controllo tutte le piantine continuavano a sviluppare normalmente ed avevano le radici di color chiaro, nelle soluzioni con tallio lo sviluppo si arrestò, quasi all'atto del trapianto, nella grandissima maggioranza (fece eccezione qualche plantula nelle scatole con le concentrazioni meno elevate di Tl_2SO_4); le radichette fino dal 3°-4° giorno dal trapianto incominciarono ad imbrunire, con rapidità proporzionale alla concentrazione del composto talloso.

Sulle foglioline si notava, in presenza di Tl, una decolorazione progressiva, proporzionale al tempo ed alla concentrazione del Tl_2SO_4; tale decolorazione non si verificò nel controllo. Al quarto giorno erano già ingiallite le foglioline delle piante trattate con soluzioni allo 0,4 % e 0,5 % di tallio ed in queste stesse concentrazioni qualche pianta aveva già la fogliolina avvizzita. All'ingiallimento delle foglioline seguiva il loro accartocciamento, poi l'avvizzimento ed infine il disseccamento e la morte della pianta.

Esperienza XIX. — Con questa esperienza si volle indagare l'effetto del tallio su parti staccate da piante adulte di specie diverse; la ricerca fu eseguita con $TlNO_3$.

La tecnica seguita fu la seguente: i rametti o le foglie appena prelevate, si portavano in Laboratorio, se ne recideva la porzione basale, con un rasoio bene affilato, eseguendo il taglio sott'acqua e si immergevano immediatamente le estremità recise in acqua distillata (controlli) od in soluzioni di $TlNO_3$.

Una prima serie di prove si eseguì su: Alloro (*Laurus nobilis* L.), Edera (*Hedera helix* L.), Evonimo (*Evonimus yaponicus* L.), Limone (*Citrus limonia* L.), Oleandro (*Nerium oleander* L.), Olivo (*Olea europea* L. var. *sativa* Hoff e Link), Ricino (*Ricinus communis* L.) con soluzione 1 % di Tl (sotto forma di $TlNO_3$), per osservare gli effetti dell'assorbimento di questo composto.

L'esperimento su rametti di alloro non dette risultati molto attendibili perchè dopo due o tre giorni incominciarono a cadere le foglie, contemporaneamente nei due esemplari (con e senza tallio).

Il rametto di Edera trattato con tallio al 6° giorno presentava le foglie leggermente accartocciate e qualcuna anche con macchie decolorate ed ingiallite. Al 12° giorno gli apici erano imbruniti, quasi neri e dello stesso colore erano anche le parti del lembo fogliare più vicine all'articolazione del picciolo. Al 15° giorno e 16° l'imbrunimento si era esteso a quasi tutte le parti e poco dopo il rametto era morto mentre il controllo in acqua distillata si manteneva in ottime condizioni.

L'Evonimo, in soluzione di $TlNO_3$, incominciò al 3°-4° giorno a perdere le fogiie (ciò che non avveniva nel controllo) ed all'8° giorno era già morto. Si notò che, non tutte, ma certo la grande maggioranza delle foglie, prima di cadere ingiallivano e divenivano più coriacee e più fragili. Alla morte di questo rametto quello di controllo era ancora sanissimo.

La durata del Limone in Tl non fu più lunga di quella dell'Evonimo: le foglie incominciarono ben presto ad accartocciarsi, avvizzire, decolorarsi leggermente ed infine cadere.

L'Oleandro, invece, fino al 9° giorno non manifestò disturbi ma a partire da questo momento incominciò a verificarsi, nella parte basale del rametto, immersa nella soluzione di Tl, necrotizzazione della corteccia e del cambio: in pochi giorni la necrosi si estese ai 2/3 circa del gambo (cioè per circa cm. 20) ed alle nervature delle foglie basali che apparivano imbrunite. Il rametto di controllo si mantenne ancora per molti giorni in perfette condizioni.

L'Olivo si comportò in modo molto strano: morì prestissimo, per caduta delle foglie, il rametto posto in acqua distillata, mentre quello in Tl sopravvisse ancora per parecchi giorni.

Il Ricino risentì molto presto l'azione del tallio: già al principio del terzo giorno le foglie, osservate a luce riflessa, presentavano macchie scure a contorno non ben delimitato, contornate da alone chiaro. Le macchie erano localizzate di preferenza lungo le nervature principali, meno frequenti lungo quelle secondarie. Osservate per trasparenza le macchie si presentavano scure. Nella fotografia di Fig. 1 è visibile un lobo di foglia di Ricino con le macchie caratteristiche, in uno stadio iniziale di intossicamento.

Al quarto giorno una delle due foglie trattate con tallio, la più giovane, era raggrinzita e deformata (incurvata a coppa) e pressochè secca. Le foglie di controllo, invece, erano ancora, e si mantennero per vari giorni, freschissime.

Una seconda serie di esperienze si fece con foglie di Ricino per avere un indizio circa l'attività di traspirazione di queste in presenza di nitrato di tallio. Si presero, da una pianta di Ricino, tre foglie molto grandi ma all'incirca delle stesse dimensioni, adulte, sane e ben conservate; dalla stessa pianta si prele-

varono altre tre foglie molto più giovani, più piccole ma anche queste di dimensioni pressochè uguali fra loro. Si recisero i piccioli sott'acqua, si pesarono le singole foglie e se ne pose una di ciascuna dimensione in un vasetto con acqua distillata, un'altra con soluzione di tallio 1 ‰, la terza con soluzione 1 %.

Flg. 1. — Decolorazione della parte centrale di un lobo di foglia di Ricino per assorbimento di Tl.

Dopo 24 e 48 ore si misurarono, per le foglie più grandi, le quantità di liquido rimaste nei vasetti per trarne il valore delle quantità di liquido assorbite dalle foglie stesse; per le foglie piccole si fece solo l'osservazione dopo 24 ore perchè al 2° giorno la foglia trattata con soluzione all'1 % mostrava già segni troppo evidenti di sofferenza ed era parzialmente disseccata. Un vasetto

della stessa forma e dimensione dei precedenti, contenente lo stesso volume di acqua distillata, fu lasciato nell'ambiente per misurare la quantità di liquido perduta per evaporazione; questo valore essendo risultato del tutto trascurabile (anche per il fatto che l'apertura dei vasetti era chiusa, intorno ai piccioli delle foglie, con tamponi di ovatta) si credette bene di non includerlo nel computo del liquido traspirato.

Nella Tabella XIX sono riportati i risultati dell'esperienza.

TABELLA XIX.

Azione del nitrato di tallio su foglie di Ricino.

Concentrazione in ioni Tl	Peso foglie		Liquido assorbito dopo			
			24 ore		48 ore	
	Iniziale gr.	Dopo 24 ore gr.	Valore assoluto cc.	% gr. di foglie cc.	Valore assoluto cc.	% gr. di foglie cc.
0 = Controllo	25	20	28	112	35	140
1 °/₀₀	20	19	20	100	30	150
1 %	25	24	30	120	34	136
0 = Controllo	6	6	5	83	?	?
1 °/₀₀	5	5	3,5	70	?	?
1 %	6	6	4	67	?	?

Dai valori sopra riportati, relativi alle foglie adulte, si può dedurre che in un primo momento (entro le prime 24 ore) le foglie, in presenza di nitrato di Tl in dosi piuttosto elevate (1 %), assorbono quantità di liquido maggiori che nel controllo e nella soluzione meno concentrata.

Nello stesso periodo, invece, le foglie in soluzione più diluita assorbono minor volume di liquido traspirando nella stessa misura (uguale perdita in peso); mentre il controllo in acqua distillata, pur assorbendo un volume di liquido uguale, circa, a quello assorbito dalle foglie in soluzione 1 %, ne elimina una quantità maggiore (cc. 28 assorbiti più gr. 5 di perdita in peso).

Nelle successive 24 ore, iniziandosi, forse, fenomeni di necrosi alla base del picciolo, l'assorbimento diminuisce proporzionalmente alla concentrazione del composto talloso.

Per quanto riguarda le foglie giovani il primo periodo di 24 ore è apparso già troppo lungo per osservare i fenomeni; infatti dopo 24 ore l'assorbimento di liquido è divenuto già inversamente proporzionale alla concentrazione del Tl. Questo perchè i tessuti delle foglie più giovani sono più sensibili di quelli

delle adulte all'avvelenamento da tallio. Infatti, i fenomeni di necrosi già descritti precedentemente su foglie di Ricino si ripeterono in questa prova ma comparvero già ben caratterizzati all'inizio del secondo giorno nelle foglie giovani e solo alla fine del terzo in quelle adulte, cioè dopo un tempo doppio.

Esperienza XX. — Questa, ed altre esperienze che seguono, ha per oggetto la coltivazione di piante, in soluzioni acquose, in presenza di quantità crescenti di sali di tallio. Per questa ricerca si volle semplificare al massimo la composizione della soluzione nutritiva per cercare, fin dove era possibile, di eliminare le interferenze fra l'ione Tl ed altri eventuali ioni presenti nella soluzione.

Dopo qualche ricerca preliminare si trovò che, in una soluzione all'1 ‰ di nitrato potassico e 0,5 ‰ di fosfato ammonico, le piante possono vegetare: d'altronde una soluzione, preparata con questa formula, addizionata di nitrato o solfato di tallio, non dà traccia di precipitato ed il Tl rimane completamente solubile. Questo era quanto interessava per la buona riuscita delle esperienze.

Trattandosi di una soluzione piuttosto diluita si rinnovava frequentemente e qualche volta si aggiungeva una certa quantità di soluzione nuova, invece di acqua pura, per riportare a volume il liquido nei recipienti.

Per ciascuna delle piante prese in esame si studiò l'effetto delle concentrazioni seguenti:

1/100.000.000	=	mg/litro	0,01	di ione	Tl
1/10.000.000	=	»	0,1	»	»
1/1.000.000	=	»	1	»	»
1/100.000	=	»	10	»	»
1/10.000	=	»	100	»	»
1/1000	=	»	1000	»	»

La prima delle piante prese in esame fu il Fagiuolo, della varietà « tondino » (1), i cui semi furono fatti germinare a parte in scatole Petri. Le plantule si misero in soluzione acquosa allorchè avevano raggiunto un certo sviluppo, scegliendole tutte ugualmente sviluppate, con i cotiledoni ben sani, le prime due foglioline già emesse ed un buon apparato radicale.

In ciascuno di 14 vasetti si misero tre piantine in soluzione nutritiva senza Tl e si attese, per aggiungerlo, che tutte le piantine avessero attecchito. La somministrazione si fece il 28 gennaio 1938, sotto forma di solfato, nelle concentrazioni sopra dette, distribuite a coppie di recipienti per avere tutta l'esperienza in doppio ; due vasetti, i n. 1 e 2, rimasero di controllo.

(1) Questo Fagiuolo è forse da riportarsi al *Phaseolus vulgaris* var. *sphaericus* mentre l'altra varietà da noi sperimentata, detta localmente « di Pistoia » sembra appartenere alla forma tipica di *Phaseolus vulgaris*. Comunque si riportano sempre le due varietà con i nomi di « tondino » e « Pistoia ».

Dalle numerose osservazioni compiute si stralciano le più significative per dare un quadro generale riassuntivo dei fenomeni intervenuti durante il ciclo vegetativo delle piante, durato fino al 30 marzo 1938, cioè esattamente 60 giorni dopo la somministrazione del tallio, per le piante che non ne rimasero uccise.

Al terzo-quarto giorno gli effetti del solfato di Tl si fecero risentire nelle due concentrazioni maggiori, 1000 e 100 mg/litro, con rallentamento dello sviluppo e decolorazione delle foglie ; nelle concentrazioni intermedie (specie con mg/litro 0,1, 1 e 10), invece, si ebbe un aumento di sviluppo piuttosto notevole rispetto al controllo.

Al 10° giorno i fenomeni si erano accentuati ed anche la concentrazione di 10 mg/litro si mostrava tossica mentre in un primo momento era sembrata stimolante: nella concentrazione maggiore le piante erano già morte. A tre giorni di distanza morirono anche le piante trattate con soluzione di mg/litro 100.

Lo stato delle piante alla fine della coltivazione è documentato dalla Tabella XX in cui si riportano l'ultima osservazione compiuta ed il risultato delle pesate del materiale essiccato, calcolati su sei piante per ciascuna concentrazione di Tl.

TABELLA XX.

Azione del solfato di tallio su piante di Fagiuolo coltivate in soluzioni acquose.

Concentrazione Tl mg/litro	Altezza del fusto		Sostanza secca a 110° C.			Rapporto peso parte aerea / peso radici	Fogli N.
	media cm.	massima cm.	Parte aerea gr.	Radici gr.	Totale gr.		
0 = Controllo	51,5	77,5	2,902	0,512	3,314	5,48	35
0,01	40,–	49,–	3,210	0,419	3,629	7,64	44
0,10	40,6	58,–	3,347	0,486	3,833	6,89	36
1,00	46,–	61,–	3,865	0,572	4,337	6,76	46
10,00	29,–	34,5	2,708	0,183	2,881	14,75	15

Dall'ultima osservazione risultò, inoltre, che mentre le piante dei vasi con concentrazioni di Tl fino a mg/litro 1, presentavano aspetto normale sia nella parte aerea che nelle radici, quelle dei vasi con la concentrazione massima, avevano le foglie molto ingiallite e le radici parzialmente annerite e necrotizzate.

Per brevità non si discutono i risultati delle singole esperienze rimandandone la discussione, con i rilievi del caso, alla fine delle esperienze stesse.

Esperienza XXI. — Questa ricerca fu compiuta pure su piante di Fagiuolo, non però della varietà « tondino » ma di quella comunemente denominata « di Pistoia ». Le condizioni di esperimento furono quelle stesse già descritte per l'esperienza precedente in quanto con questo duplicato si volle accertare solo se per la pianta in esame si avessero fenomeni fondamentalmente diversi da varietà a varietà.

I risultati sono indicati nella Tabella XXI nella quale si riportano solo le medie dei valori relativi alle coppie dei vasi di ogni singola concentrazione.

Si premettono alcune fra le numerose osservazioni compiute durante il ciclo vegetativo delle piante.

L'esperienza si iniziò il 21 febbraio 1938 (data della somministrazione del solfato talloso) e si protrasse fino al 3 giugno 1938.

Il 25 febbraio tutte le piante dei vasi con soluzione più concentrata erano morte mentre lo sviluppo più rigoglioso sembrava fosse quello delle piante in soluzione di 0,1 mg/litro di Tl. Le concentrazioni superiori sembravano meno adatte allo sviluppo delle piante che presentavano un aspetto meno rigoglioso anche del controllo.

Il 19 marzo, dopo 26 giorni, le piante in soluzione di Tl nella concentrazione di 100 mg litro, che già da tempo manifestavano segni evidenti di deperimento, avevano le radici completamente imbrunite ed in parte in via di alterazione; l'annerimento invadeva anche il colletto e la parte basale del caule fino, talvolta, ad 1/3 dell'altezza. Le foglie erano avvizzite, ingiallite ai bordi, con macchie brune verso la base. Questi furono i sintomi precursori della morte avvenuta per tutte le piante nel volgere di pochi giorni.

Nella Tabella XXI si riportano le osservazioni eseguite il 28 aprile 1938, circa un mese prima della fine dell'esperienza, perchè al momento in cui si

TABELLA XXI.

Azione del solfato di tallio su piante di Fagiuolo coltivate in soluzioni acquose.

Concentrazione Tl mg/litro	Foglie N.	Altezza del fusto		Sostanza secca a 110° C. gr.
		media cm.	massima cm.	
0,= Controllo	27	36	46	4,200
0,01	32	50	55	8,850
0,1	32	52	57	6,360
1,-	32	48	56	4,900
10,-	29	38	44	3,600

tolsero le piante per pesarle queste erano già deperite, pressochè ugualmente in tutti i vasi, per l'avanzata età della coltura.

L'osservazione di cui si riportano i dati, invece si riferisce alle piante nel loro massimo rigoglio vegetativo.

Esperienza XXII. — Con le modalità già descritte nella esperienza XX si coltivarono, dal 21 febbraio 1938 al 3 giugno 1938, piante di Fava (*Vicia faba* L. var. *equina* Pers.). I semi furono fatti germinare in sabbia e le piante si trasportarono nelle soluzioni (due piante per vaso) allorchè avevano raggiunto l'altezza di 50-60 mm.

Altre volte si era constatato che su piante nate in sabbia e trasportate in soluzioni acquose si può avere sviluppo di tubercoli radicali, ciò che, infatti, si verificò.

Nella Tabella XXII si riportano, come per i Fagiuoli della esperienza XXI e per le stesse ragioni, le osservazioni biometriche del 28 aprile 1938 (media delle 4 piante) e quelle ponderali del 3 giugno 1938 (totale delle 4 piante).

Tabella XXII.

Azione del solfato di tallio su piante di Fava coltivate in soluzioni acquose.

Concentrazione Tl mg/litro	Altezza		Getti secondari N.	Foglie N.	Tubercoli radicali N.	Sviluppo tubercoli (1)	Sostanza secca 110° C.
	media cm.	massima cm.					
0 = Controllo	51	54	3	45	49	3	3,150
0,01	45	50	7	45	67	4	3,100
0,1	54	60	6	50	43	5	4,100
1,–	59	60	2	59	39	4	4,300
10,–	54	61	2	36	12	2	3,250
100,–	60	62	2	51	15	1	? (2)

(1) Per lo sviluppo dei tubercoli radicali si ricorse ad un apprezzamento « a vista » anzichè a misurazioni che sarebbero state lunghe e difficili su piante vive, con radici delicate. Lo sviluppo si indica con numeri crescenti da 1 a 5, in relazione al diametro ed al numero medio.

(2) All'epoca in cui furono tolte le piante dai vasi per pesarle quelle trattate con mg/litro 100 erano già morte da vari giorni e non si credette opportuno prenderle in esame.

Durante l'esperienza si notò che dopo circa 10-12 giorni dalla somministrazione del tallio le piante nei vasi con la concentrazione massima incominciarono ad avvizzire manifestando segni di sofferenza.

All'osservazione le radici apparvero annerite insieme alla parte basale del caule. Quando l'annerimento raggiunse, verso il 15° giorno, l'altezza di 7-10 centimetri, sul fusto, parte delle radici erano già in via di decomposizione e le piante morirono.

Tutte le altre piante continuarono a vivere benissimo fino al 3 giugno; solo nell'ultimo periodo qualcuna incominciò a deperire per essere giunta alla fine del ciclo vegetativo che si era prolungato molto a lungo pur essendosi sviluppate in una soluzione nutritiva del tutto priva di alcuni elementi chimici necessari allo sviluppo.

Esperienza XXIII. — In questa esperienza si riuniscono i pochi dati, a carattere semplicemente orientativo, raccolti da colture di Garofani, Ricino e Zucche in soluzioni acquose. Queste colture fallirono per ragioni in parte ignote, in parte, invece, facilmente identificabili, da ricercarsi queste, sia nel mezzo nutritivo, poco adatto a piante che difficilmente si lasciano coltivare anche in soluzioni bene equilibrate e complete, sia nell'ambiente. Infatti si dovette utilizzare per questi esperimenti una serra riscaldata di giorno a termosifone e soggetta a forte raffreddamento notturno così da non potersi evitare forti e continuate escursioni termiche nella stagione invernale e primaverile del 1937-38 che è decorsa particolarmente rigida.

I semi di Ricino e Zucca furono fatti germinare in sabbia ed in seguito trasportati in soluzioni acquose; per il Garofano, invece, si usarono giovani piantine cresciute in terra e di qui trapiantate nelle soluzioni. L'esperimento sulla Zucca fu anche ripetuto senza miglior fortuna.

Nella Tabella XXIII si riporta, in giorni, la durata di vegetazione delle varie piante nelle diverse soluzioni; da questi si possono trarre solo indizi, non troppo precisi, circa la resistenza delle singole specie al metallo in esame.

Tabella XXIII.

Azione del solfato di tallio su piante di Garofano, Ricino e Zucca coltivate in soluzioni acquose.

Concentrazione in Tl mg/litro	Durata di vegetazione delle piante di		
	Garofano giorni	Ricino giorni	Zucca giorni
0 = Controllo	18	45	34
0,01	32	34	19
0,1	35	26	22
1,-	22	17	33
10,-	10	13	18
100,-	8	11	10
1000,-	8	3	5

I sintomi di avvelenamento da Tl, su queste piante, furono sempre quelli descritti precedentemente per altre e cioè: annerimento delle radici (a partire

dalle più vecchie), limitato da prima al cilindro corticale ed estendentesi al cilindro centrale solo molto più tardi, quando è sopravvenuta la necrosi delle cellule epidermiche; estensione dell'imbrunimento al colletto ed alla parte basale del caule; avvizzimento, maculatura e decolorazione delle foglie seguita da disseccamento e, solo eccezionalmente, da caduta precoce.

Talvolta l'annerimento del caule, e specialmente nelle piante con tessuti molto molli ed acquosi (come la Zucca), è preceduto da uno stadio caratteristico nel quale i tessuti stessi divengono semitrasparenti.

Il fenomeno si verifica, qualche volta, anche sulle foglie in uno stadio che precede la maculatura bruna. Questa alterazione particolare, ricorda quasi il « Mosaico »; non è molto frequente e differisce fra l'altro dal « Mosaico » per avere, le foglie, anche una caratteristica fragilità.

Dalle esperienze XX a XXIII è risultato che non tutte le piante hanno la stessa sensibilità al Tl e che questa è diversa anche da varietà a varietà della stessa pianta.

Così ad esempio per il Fagiuolo si ha, nella varietà « tondino », un effetto stimolante massimo da mg/litro 1 di Tl mentre per la varietà « di Pistoia » tale effetti si ha con mg/litro 0,01. Per ambedue le varietà la dose tossica sarebbe di poco inferiore mg/litro 10.

Dal confronto fra le varie specie si rileva che la Fava è insensibile alla dose minima sperimentata, risente la stimolazione massima da dosi di mg/litro 1 e l'effetto tossico da concentrazioni superiori ai 10 mg/litro.

Si avrebbe quindi una sensibilità maggiore per il *Phaseolus vulgaris*, un poco minore per il *Phaseolus vulgaris* var. *sphaericus* e minore ancora per la *Vicia faba* var. *equina*.

Esperienza XXIV. — Dopo avere esposto e discusso i risultati ottenuti da colture in soluzioni acquose si riferiscono quelli avuti da colture in sabbia.

Per queste esperienze si scelse la sabbia come materiale di supporto delle piante perchè si era visto che la terra adsorbe con molta facilità i sali di Tl, ciò che si voleva evitare per avere un quadro più chiaro delle azioni di detti sali sulle piante.

In alcune serie di comuni vasi di terra cotta furono pesati Kg. 2, in altre serie Kg. 4, di sabbia d'Arno lavata, stacciata ed asciugata al sole, della composizione media seguente:

calcare	25,7 %	azoto nitrico	tr.
sostanza organica	1,3 %	» ammoniacale	tr.
umidità igroscopica	0,6 %	» totale	0,074 %
pH	7,2	P_2O_5	0,045 %

Sali solubili in H_2O = tr.

Di questa sabbia fu ricercato il coefficiente di imbibizione massima, indicando con questo termine la quantità di acqua necessaria a raggiungere la

saturazione completa, fino a percolazione, dell'unità di peso del materiale. Tale coefficiente fu trovato pari al 1/4 in peso cioè Kg. 1 di sabbia trattenevano un massimo di cc. 250 di acqua ; aggiungendone oltre il liquido percolava. Di tale osservazione ci si servì per stabilire le quantità di soluzione di nitrato talloso da somministrare alle piante coltivate nelle serie di vasi, supponendo che la quantità di acqua di imbibizione necessaria alla buona vegetazione delle piante oscillasse, approssimativamente, intorno alla metà del coefficiente d'imbibizione. Nel somministrare le soluzioni di nitrato talloso, quindi, si distribuirono cc. 125 di soluzione, alla voluta concentrazione, per ogni chilogrammo di sabbia. Se il presupposto di partenza non è molto lontano dal vero, ne deriva che la concentrazione del $TlNO_3$ nella soluzione circolante nei vasi, oscillava mediamente intorno al valore della concentrazione di sale nella soluzione somministrata.

In queste, come in tutte le esperienze di cui si riferisce nel presente lavoro, la concentrazione è sempre espressa in Tl ioni.

Le concentrazioni sperimentate furono le seguenti : 1/100.000.000, 1/1.000.000, 1/100.000 ed 1/1000 e cioè mg/Kg. di sabbia, 0,00125, 0,125, 1,25 e 125, oltre, naturalmente, un controllo senza tallio.

In una serie di vasi, contenenti ciascuno Kg. 2 di sabbia, si seminarono Fagiuoli della varietà « di Pistoia » in numero molto superiore a quello delle piante che si era deciso di coltivare in ciascun vaso. La semina ebbe luogo il 25 gennaio 1938 ; la somministrazione del $TlNO_3$ si fece il 25 febbraio 1938, dopo aver diradato le piantine lasciandone cinque per ciascun vaso. Nel procedere al diradamento si procurò di lasciare piante che avessero tutte lo stesso vigore e la stessa altezza.

Nel periodo compreso fra la germinazione dei semi e la somministrazione di $TlNO_3$, ed anche successivamente si innaffiarono ripetutamente i vasi con soluzione di :

nitrato potassico	1.
fosfato ammonico	0,5
acqua	1000

sia per favorire la nutrizione delle piantine costrette a vivere in ambiente povero quale la sabbia, sia per costituire nel substrato una certa riserva di azoto, nitrico ed ammoniacale, capace di neutralizzare l'influenza delle minime quantità di azoto nitrico introdotte con il metallo.

Come nelle esperienze precedenti, si riportano soltanto le più interessanti fra le numerose osservazioni compiute periodicamente sulla coltura.

Al 3° giorno della somministrazione del $TlNO_3$ le piante trattate con la concentrazione massima presentavano macchie decolorate lungo le nervature principali e secondarie, più marcate verso l'inserzione del picciolo. I margini

del lembo foliare avevano piccole zone necrotizzate. Il fenomeno suddetto si aggravò con il tempo.

Al 15° giorno si notò che tutte le piante trattate con Tl avevano una foglia in più che quelle del controllo e, di conseguenza, un internodio di più nel fusto: inoltre le piante trattate con le tre soluzioni meno concentrate (1/100.000.000, 1/1.000.000 e 1/100.000) presentavano una colorazione verde decisamente più intensa che il controllo.

Al 18° giorno sulle foglie vecchie delle piante trattate con la soluzione più concentrata di Tl si erano ancora accentuati i fenomeni sopra descritti, specie il disseccamento e si notò che mentre la maculatura procedeva dal centro verso i bordi della lamina, il disseccamento, al contrario, procedeva dall'esterno all'interno. Le foglie più giovani di queste stesse piante presentavano, invece, fenomeni di decolorazione diffusa, ugualmente intensa su tutta la superficie della lamina.

Nella Tabella XXIV si riportano i dati biometrici e ponderali rilevati parte al 40° giorno e parte al 100°, complessivamente per le cinque piante di ciascun vaso.

TABELLA XXIV.

Azione del nitrato di tallio su piante di Fagiuolo coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/kg. di sabbia	Al 40° giorno		Al 100° giorno (1)									
	Altezza del fusto		Foglie	Fiori	Frutti	Semi maturati	Sviluppo tubercoli	Peso sostanza secca a 110° C.			Rapporto peso parte aerea / peso radici	Rapporto peso parte aerea × 100 / altezza media
	media cm.	mass. cm.	N.	N.	N.			Parte aerea gr.	Radici gr.	Totale gr.		
0 = Controllo	29,2	33,–	24	0	1	0	—	4,950	1,050	6,—	4,71	17,–
0,00125	22,6	32,–	23	0	4	4	—	5,850	1,000	6,850	5,85	26,–
0,125	23,–	36,–	22	2	1	1	—	4,860	1,400	6,260	3,40	21,1
1,25	24,7	33,–	22	0	2	0	—	4,390	1,250	5,640	3,51	18,–
125,–	11,6	14,6	16	0	—	—	—	—	—	—	—	—

(1) Le piante trattate con la concentrazione massima erano morte verso il 55°-60° giorno.

Esperienza XXV. — Anche piante di Fava furono trattate come si è detto precedentemente per quelle di Fagiuolo. Non si ripetono per questa e per le colture che seguono, le condizioni di esperienza che furono le stesse.

I vasi usati furono identici ai precedenti, cioè contenevano Kg. 2 di sabbia.

Nulla di notevole si verificò fino al 10° giorno, circa, ove si eccettui un maggiore accrescimento ed uno sviluppo più rigoglioso nelle piante dei vasi trattati con Tl nelle tre dosi minori.

Al 12° giorno le piante che avevano ricevuto maggiori quantità di $TlNO_3$ presentavano notevoli alterazioni: alcune foglie disseccate, altre ingiallite, specialmente lungo la nervatura mediana. Alla base del fusto presentavano strie longitudinali o macchie continue, nere, che si iniziavano circa 1 cm. al disopra del colletto estendendosi talora per qualche centimentro.

Al 100° giorno di coltura le osservazioni diedero i risultati di cui alla Tabella XXV; in questa i risultati relativi alla concentrazione massima di Tl sono riportati per una sola pianta essendo le altre morte poco oltre un mese dalla somministrazione del Tl.

Tabella XXV.

Azione del nitrato di tallio su piante di Fava coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Foglie N.	Getti secondari N.	Altezza del fusto. media cm.	Altezza del fusto. mass. cm.	Sviluppo tubercoli	Peso di sostanza secca a 110° C. Parte aerea gr.	Peso di sostanza secca a 110° C. Radici gr.	Peso di sostanza secca a 110° C. Totale gr.	Rapporto peso parte aerea / peso radici	Rapporto peso parte aerea × 100 / altezza media
0 = Controllo	49	8	53,6	76	—	2,810	2,100	4,910	1,33	5,2
0,00125	47	8	41,5	80	—	2,270	3,000	5,270	0,75	5,5
0,125	57	12	56,4	79	—	3,150	2,500	5,650	2,10	5,6
1,25 (1)	67	14	45,6	77	—	4,150	2,120	6,270	1,95	9,–
125,–(1)	11	1	88,–	88	—	1,000	0,300	1,300	3,30	?

(1) Dati riferentisi ad 1 pianta anzichè a 5.

Il fatto è degno di nota perchè mentre quattro piante erano morte l'unica superstite mostrava un rigoglio vegetativo molto superiore a tutto le altre, ciò che non si può attribuire a mancata concorrenza nella alimentazione poichè la soluzione nutritiva somministrata ai vasi (vedi esper. XXIV) era più che sufficiente a nutrire cinque piante.

Questo è stato l'unico caso di pianta erbacea resistente a concentrazioni di Tl pari a mg/Kg. di sabbia 125.

La pianta superstite nel vaso con mg/Kg. di sabbia 125 di Tl presentava i caratteristici sintomi di intossicazione da tallio descritti sopra ma l'intossicazione stessa, avvenuta nel primo periodo di sviluppo, non mostrò di aver molto progredito.

Esperienza XXVI. — Dopo aver riferito dei risultati ottenuti dalla coltura della Fava si passa a quelli desunti dall'esperienza su Frumento. Nulla di mutato per quanto si riferisce alle condizioni di esperienza. In ogni vaso furono lasciate 6 piante; non fu sperimentata la concentrazione minore, come nel Mais (vedi esperienza XXVII).

Il $TlNO_3$ fu somministrato il 28 febbraio 1938 e le piante vegetarono fino al 5 giugno 1938. In quest'epoca, essendo giunte tutte a maturazione, si tolsero dai vasi pér essiccarle e pesarle.

Fino dal 5° giorno s'incominciarono ad osservare i primi sintomi di stimolazione con la concentrazione di Tl pari a mg/Kg. di sabbia 1,25 e di intossicamento (con mg/Kg. di sabbia 125). I primi si manifestarono con sviluppo più rigoglioso e colorazione verde più intensa, i secondi con decolorazione progrediente delle foglie, a partire dalla base, e disseccamento iniziantesi dall'apice.

Questi fenomeni si accentuarono in seguito con la comparsa di aree imbrunite sulle foglie, verso il 10° giorno, l'ingiallimento quasi completo delle piante, al 30° giorno, accompagnato da disseccamento della maggior parte delle foglie.

Solo le porzioni apicali delle foglie più giovani erano ancora verdi. Le macchie brune, a differenza delle piante di specie diversa, non erano molto progredite. Al 45° giorno le piante trattate con la dose più elevata di Tl erano tutte perite.

I risultati finali delle colture sono riassunti nella Tabella XXVI.

TABELLA XXVI.

Azione del nitrato di tallio su piante di Frumento coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Altezza del fusto		Culmi	Spighe	Cariossidi	Sostanza secca a 110° C.			Rapporto peso parte aerea / peso radici	Rapporto peso parte aerea × 100 / altezza media
	media cm.	mass. cm.	N.	N.	N.	Parte aerea gr.	Radici gr.	Totali gr.		
0 = Controllo	60,8	67	6	6	59	2,080	0,420	2,500	4,95	3,4
0,125	66,8	71	6	6	71	2,550	1,420	3,970	1,79	3,6
1,25	49	54	6	6	14	1,350	0,320	1,670	4,53	2,8

Le piante furono attaccate nell'ultimo periodo di vegetazione, dall'*Oidium monilioides ;* della gravità dell'attacco si riferirà in appresso.

Esperienza XXVII. — Nella presente esperienza si riferiscono gli effetti del Tl sul Mais sul quale, come si è già detto, si sperimentarono le stesse concentrazioni usate per il Frumento.

Già al 5° giorno si fece risentire l'azione tossica del metallo nella concentrazione più elevata. I sintomi erano quelli stessi già rilevati sulle altre specie di piante : decolorazione, maculatura bruna, disseccamento degli apici e dei margini della lamina fogliare. Con il progredire del tempo i sintomi si aggravarono al punto da portare a morte le piante fra il 24° ed il 29° giorno.

Null'altro di particolare da segnalare oltre le conseguenze da trarre dai valori della Tabella XXVII, riferentisi alle osservazioni del 3 giugno 1938, al 92° giorno dalla somministrazione del solfato talloso.

TABELLA XXVII.

Azione del nitrato di tallio su piante di Mais coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Foglie N.	Altezza del fusto		Sostanza secca a 110° C.			Rapporto peso parte aerea / peso radici	Rapporto peso parte aerea × 100 / altezza media
		media cm.	mass. cm.	Parte aerea gr.	Radici gr.	Totale gr.		
0 = Controllo	19	21,–	27,–	2,720	1,100	3,820	2,47	13,–
0,125	18	16,–	20,–	3,200	1,400	4,600	2,28	20,–
1,25	17	18,3	24,–	2,600	1,020	3,620	2,50	14,3

Esperienza XXVIII. — Si riportano le osservazioni compiute su piante di Garofano coltivate in sabbia, in presenza di Tl.

Le piante di Garofano, già radicate in terra, da talee, si trapiantarono in vasi contenenti Kg. 4 di sabbia, in numero di tre per vaso. Una delle tre piante era di una varietà a fiori bianchi, la seconda a fiori rosa, le terza a fiori rossi.

Scopo dell'esperienza era quello di accertare eventuali differenze nella fioritura.

Il trapianto fu eseguito il 25 gennaio 1938 ma non si somministrarono le soluzioni tallose fino a che tutte le piante non mostrarono di avere attecchito, cioè fino al 20 febbraio 1938.

Gli effetti tossici del tallio nella dose massima incominciarono a manifestarsi verso il 10° giorno, con l'avvizzimento, l'accartocciamento, il disseccamento dell'apice delle foglie più basse. Una di queste piante morì al 25° giorno, la seconda al 37°, la terza al 40°. Questa aveva emesso un pollone che morì anch'esso verso il 57° giorno.

Una accurata osservazione al 45° giorno e due successive, al 65° ed all'85° giorno, riguardanti, queste, i soli dati della fioritura dettero i risultati di cui alla Tabella XXVIII.

TABELLA XXVIII.

Azione del nitrato di tallio su piante di Garofano coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Al 45° giorno		Al 65° giorno		All'85° giorno
	Altezza del fusto				
	media cm.	massima cm.	Germogli secondari N.	Bocci fiorali N.	Fiori aperti N.
0 = Controllo	36,–	46,–	4	0	0
0,00125	21,8	29,–	9	1	1
0,125	36,5	43,–	7	2	1
1,25	28,5	34,–	9	2	0

Esperienza XXIX. — In condizioni identiche a quello verificatesi per le piante già descritte si condussero ricerche sul Mirabolano, (*Prunus mirabolana*) sul quale non si notarono effetti molto evidenti di stimolo. Queste piante furono tolte dal terreno in dicembre, trasportate subito in vasi con Kg. 4 di sabbia ed innaffiate con soluzioni di nitrato di Tl il 21 febbraio. In ogni vaso fu posta una sola pianta dell'altezza di circa 40 cm., con la base del fusto del diametro di circa 7 mm. e le ramificazioni all'estremità distale di esso, tagliato, per la formazione di alberello a vaso o paniere. Al momento del trapianto le piante erano, naturalmente, in periodo di riposo ; incominciarono a « muovere » cioè ad ingrossare le gemme verso la fine di febbraio. Le piante trattate con Tl incominciarono la schiusura delle gemme con un lieve anticipo sul controllo, non tale da dare però un indizio sicuro di stimolazione da parte del metallo. Per il resto nessuna differenza degna di nota per le piante trattate con dosi meno elevate di Tl (mg/Kg. di sabbia 0,00125, 0,125, 1,25). In quella trattata con mg. 125 per Kg. di sabbia, invece, da una gemma del fusto sita circa 15 cm. al di sopra del colletto si originarono foglie che, fin dall'inizio, presentavano una sfumatura giallastra lungo la nervatura mediana. Più tardi, in queste stesse foglie, la maculatura si ramificò per seguire le nervature secondarie più vicine all'inserzione del picciolo. Più tardi i fenomeni notati per le foglie di queste gemme si estesero anche ai rametti più bassi, ma con intensità molto minore ed in proporzione inversa alla distanza dal colletto.

L'intensità della decolorazione aumentò per circa 40, 50 giorni dopo la somministrazione del tallio, poi si arrestò. Con l'intensità si arrestò anche il progredire del sintomo verso le foglie più alte.

Per questa ragione, pensando che ormai la maggior parte del Tl somministrato fosse stato assorbito dalla pianta, all'80° giorno di coltura si somministrarono, al solo vaso con la concentrazione maggiore di Tl, altri 500 cc. di

TABELLA XXIX.

Azione del nitrato di tallio su piante di Mirabolano coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Numero delle foglie			Percentuale foglie decolorate
	Normali	Parzialmente decolorate	Totale	
0 = Controllo	96	—	96	—
0,00125	169	—	169	—
0,125	245	—	245	—
1,25	282	—	282	—
250	73	92	165	56

soluzione di $TlNO_3$ all'1 ‰ di Tl. Dopo pochi giorni si videro aggravare i sintomi sopra descritti.

Nelle foglie già decolorate si intensificò la decolorazione mentre questa incominciava a verificarsi su foglie sempre più alte, alle quali non era giunto, in quantità tale da produrre disturbi, il Tl della prima somministrazione.

Al 110° giorno la pianta era sempre in condizioni tali da far ritenere impossibile la morte per avvelenamento da Tl. In particolare non si ha nessun indizio della maculatura bruna riscontrata su altra specie di piante.

Lo stato delle piante al 110° giorno è schematizzato nella Tabella XXIX.

Esperienza XXX. — In vasi della serie di Kg. 4 si posero due talee di Pioppo, costituite da un pezzo di ramo del diametro di cm. 2-3 e della lunghezza media di cm. 40. Due gemme, comprese in una lunghezza di circa 15 cm., si approfondirono nella sabbia, le altre, in numero di 4-8 si lasciarono fuori.

Le talee furono tagliate il 15 dicembre 1937 e messe in sabbia lo stesso giorno ; il Tl fu somministrato, nelle concentrazioni usate per le altre piante, il 12 febbraio 1938 allorchè incominciavano a muovere.

Lo stato delle piante, in diversi momenti dell'esperienza, è fissato nella Tabella XXX.

TABELLA XXX.

Azione del nitrato di tallio su piante di Pioppo, ottenute da talee coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Gemme N.	Al 20° giorno Foglie N.	Al 45° giorno Foglie N.	Al 110° giorno Foglie N.
0 = Controllo	11	19	61	40
0,00125	12	43	70	56 (1)
0,125	12	25	87	95
1,25	11	26	61	97
250	12	19	73	90

(1) Su una sola talea essendo morta l'altra.

L'effetto stimolante delle tre dosi meno elevate di Tl si rilevò molto presto dalla rapidità maggiore con cui schiusero le gemme; effetti tossici, però, non si sono ancora manifestati nonostante sia stata raddoppiata la dose maggiore come nell'esperienza precedente e sotto la stessa data. Solo verso il 90° giorno una pianta del vaso con concentrazione di Tl di mg/Kg. di sabbia 0,00125 è morta in seguito a marciume la cui infezione avvenne, probabilmente, at-

traverso il taglio dell'estremità superiore della talea dalla quale si iniziarono i primi sintomi di disseccamento.

Esperienza XXXI. — Sotto condizioni identiche a quelle descritte per il Pioppo ed il Mirabolano si studiò l'Olivo, prendendo però in esame solo piantine molto giovani.

In ciascun vaso di una serie da 4 Kg. si pose una piantina di 1 anno ed una di due anni. Fu eseguito il trapianto il 18 gennaio 1938 e la somministrazione del $TlNO_3$ il 21 febbraio 1938; si procedette alla prima osservazione il 3 marzo 1938, cioè al 10° giorno del trattamento. Successivamente si fecero altre osservazioni, due delle quali si riportano nella Tabella XXXI, limitandosi a riferire il numero delle foglie, ed indicazioni generiche sullo sviluppo, delle piante di un anno, essendo morte alcune di quelle di 2 anni.

Tabella XXXI.

Azione del nitrato di tallio su piante di Olivo coltivate in sabbia.

Concentrazione Tl ioni mg/Kg. di sabbia	Al 10° giorno		Al 45° giorno		Al 105° giorno	
	Foglie N.	Sviluppo	Foglie N.	Sviluppo	Foglie N.	Sviluppo
0 = Controllo	5	buono	5	buono	9	buono
0,00125	8	ottimo	9	ottimo	10	buone
0,125	6	buono	10	ottimo	12	ottimo
1,25	5	discreto	8	buono	12	ottimo
125,- - 250 (1)	6	quasi secca	—	—	—	—

(1) A questo vaso fu raddoppiata la dose di nitrato di tallio all'80° giorno, come si fece per il Pioppo ed il Mirabolano. L'Olivo piccolo morì verso il 12°-13° giorno.

Nelle piantine di due anni si rilevò la morte del controllo verso il 60° giorno; verso la stessa epoca quelle trattate con $TlNO_3$ incominciarono a perdere foglie; la piantina con la concentrazione minore si mantenne in vita per un getto laterale del fusto sviluppatosi quando la pianta sembrava quasi morta. Il getto ha continuato a vivere ed a produrre foglie mentre è morta la parte superiore del fusticino.

Nella concentrazione superiore la piantina di due anni morì pochi giorni dopo quella del controllo mentre le due piante trattate con le dosi immediatamente inferiori hanno continuato a vegetare ottimamente; soltanto dopo la seconda somministrazione di Tl, nel vaso con la concentrazione massima, la pianta dette qualche segno di sofferenza dal quale però sembra vada rimettendosi col tempo.

Da quanto si è esposto circa le esperienze (XX a XXXII) relative alla coltura di piante, in soluzioni acquose od in sabbia, si può anzitutto dedurre che il tallio ha un azione stimolante sullo sviluppo delle piante. Questa azione si esplica entro limiti piuttosto ampi del fattore dose, limiti dei quali non è facile stabilire il *minimum*.

Infatti per le piante studiate si è trovato che la concentrazione meno elevata fra quelle sperimentate è stata quasi sempre stimolante, nonostante la dose fosse minima (1/100.000.000 = 0,01 mg/litro nelle soluzioni acquose e nella soluzione circolante dei vasi con sabbia). La concentrazione che ha il massimo effetto oligodinamico varia da specie a specie e la sensibilità, sotto questo aspetto, ha la seguente graduatoria in senso crescente.

In soluzioni acquose:
- Fagiuolo (tondino) ..... mg/litro 1,–
- Fava ..... mg/litro 1,–
- Fagiuolo (di Pistoia) ..... mg/litro 0,01

In sabbia...:
- Fave ..... mg/Kg. sabbia 1,25 (= mg/litro 10 della soluzione circolante).
- Frumento ..... mg/Kg. sabbia 0,125 (= mg/litro 1 nella soluzione circolante).
- Mais ..... mg/Kg. sabbia 0,125 (= mg/litro 1 nella soluzione circolante).
- Fagiuolo (di Pistoia). mg/Kg. sabbia 0,00125 (= mg/litro 0,01 nella soluzione circolante).

Dal rapporto $\frac{\text{peso parte aerea}}{\text{peso radici}}$ non si può dedurre con certezza assoluta se l'azione di stimolo si verifichi maggiormente sulla parte aerea o sulle radici ma dalle esperienze compiute sembrerebbe che nelle Monocotiledoni (Frumento e Mais) l'azione sia maggiormente risentita dalle radici mentre nelle Dicotiledoni (Fagiuolo e Fava) l'effetto più evidente si avrebbe sulla parte aerea. Infatti per queste ultime la presenza di Tl tende ad aumentare il valore di detto rapporto mentre per le prime tende a deprimerlo, specie nelle concentrazioni minime.

Sulla parte aerea, infine, il Tl ha dimostrato di favorire particolarmente l'incremento dei diametri trasversali o, quanto meno, il peso di sostanza secca nell'unità di misura in altezza della pianta. Questo si può dedurre dall'esame del rapporto $\frac{\text{peso per aerea} \times 100}{\text{altezza}}$.

Tutto quanto si è detto riguarda specialmente le piante erbacee.

I sintomi di avvelenamento da Tl si sono descritti nelle singole esperienze. Resta da discutere tutto ciò che riguarda le dosi tossiche e quelle letali.

Le prime, nelle quali si includono tutte quelle che abbassano la produzione della pianta rispetto al controllo, pur senza portare a morte la pianta stessa, variano pochissimo da specie a specie; generalmente tutte le piante erbacee danno con mg/litro 10 in soluzioni acquose e con mg/Kg. sabbia 1,25 (pari a

mg/litro di soluz. circolante 10,–), in sabbia un prodotto in sostanza secca sensibilmente inferiore a quello del controllo. Ciò starebbe a dimostrare che non vi sono differenze notevoli da mezzo a mezzo di coltura nè da specie a specie di pianta.

La dose letale in soluzioni acquose è compresa fra 10 e 100 mg/litro di Tl ma più vicina al valore più alto.

In sabbia è compresa fra 1,25 e 125 mg/Kg. sabbia e cioè fra 10 e 1000 mg/litro di sol. circolante.

Sfortunatamente non si sperimentò in sabbia la dose intermedia di mg/Kg. sabbia 12,5 (corrispondente a mg/litro di sol. circolante 100), la quale avrebbe dato la misura per un esatto confronto fra i due mezzi di coltura.

Comunque è da ricordare che una pianta di Fava resistè, in sabbia, anche alla concentrazione più elevata mentre nessuna aveva resistito alla stessa concentrazione di Tl in soluzioni acquose.

Le piante arboree resistono molto di più all'azione del Tl ; la dose massima sperimentata di 250 mg/Kg. sabbia (pari a 2000 mg/litro sol. circolante) non è, infatti, sufficiente a determinare la morte di alcuna pianta tra quelle sperimentate.

Esperienza XXXII. — Nella presente esperienza si riferisce su alcune ricerche, a carattere orientativo, eseguite su piante arboree adulte, facendo assorbire soluzioni di Tl_2SO_4 attraverso il tronco. Le concentrazioni sperimentate (100 mg/litro e 500 mg/litro di Tl) sono risultate, come si vedrà, troppo elevate e perciò poco adatte allo scopo che si perseguiva : quello di studiare l'effetto del Tl sulle piante nelle condizioni sperimentate e di osservare eventuali azioni fitoterapiche.

Queste ultime, come si vedrà nel capitolo che segue, non si poterono studiare a causa dell'andamento stagionale.

Per far assorbire le soluzioni alle piante si praticava, nel tronco o sui rami, un foro del diametro di mm. 8, vi si introduceva una canna di vetro munita di un collare di gomma ed a questa si innestava un tubo di gomma collegato all'altra estremità ad un tubo di vetro immesso nel tappo che chiudeva la bottiglia contenente la soluzione. Questo tubo di vetro penetrava nel recipiente appena per 1 centimetro mentre in un secondo foro del tappo era innestata un'altra canna, pure di vetro, che giungeva fino al fondo del recipiente.

La bottiglia si sospendeva, rovesciata, col collo in basso, a 20, 30 cm. di altezza sul foro dell'albero in modo che il liquido scendesse per il tubo di gomma fin dentro il tronco mentre il tubo interno al recipiente assicurava la penetrazione dell'aria. La zona del tronco immediatamente vicina al foro si lutava con vischio per evitare perdite di liquido.

Il vischio si è dimostrato un ottimo mastice per questo uso.

A piante di pesco, adulte, allevate a paniere, si applicarono, alla prima biforcazione di una branca primaria, i dispositivi sopra descritti, con un con-

trollo a base di acqua distillata per osservare eventuali azioni dipendenti dall'operazione e non dal metallo iniettato. L'applicazione si fece l'8 aprile 1938 quando i Peschi avevano già fiorito ed incominciavano a schiudere le gemme a legno.

Le quantità di liquido fatte assorbire da ciascuna pianta furono di cc. 900. L'assorbimento avvenne in circa 20 giorni.

Premettiamo che, essendo il pescheto in cui si fece l'esperienza posto a qualche chilometro dal Laboratorio non si poteva visitare così frequentemente come sarebbe stato desiderabile. Perciò avvenne che, avendo trovato rotto, al 20° giorno, il tubo di gomma del recipiente contenente la soluzione più concentrata di Tl non si può assicurare che questa sia stata completamente assorbita. Il contadino che abita sul posto ci assicurò che la rottura era avvenuta quando il recipiente era già vuoto ma ciò nonostante si riportano i risultati con riserva.

Alla visita eseguita precedentemente, al 12° giorno tutto era in ordine e la soluzione era ridotta circa a metà del volume primitivo.

Comunque, salvo un lieve ritardo nella emissione delle foglie nelle piante trattate con soluzioni di Tl (ritardo maggiore con la soluzione più concentrata) non si notò alcun fenomeno degno di particolare rilievo. All'ultima osservazione, eseguita il 10 giugno 1938 le piante avevano tutte un aspetto perfettamente normale.

Piante di Susino furono trattate, nello stesso giorno, come quelle di Pesco. Di queste, non essendosi verificati inconvenienti, si può essere ben certi dei risultati ottenuti. Anche su queste piante si notò ritardo nella schiusura delle gemme in dipendenza dell'applicazione di Tl_2SO_4.

Sull'albero al quale si somministrò la soluzione allo 0,1 ‰ (100 mg/litro) non si notò altro che il detto ritardo di qualche giorno, i cui effetti scomparvero, in seguito, anche a causa dell'abbassamento di temperatura a primavera inoltrata, accompagnato da siccità, il quale arrestò, quasi, per un certo tempo, la ripresa vegetativa.

Le gemme del Susino trattato con la soluzione allo 0,5 ‰ risentirono l'azione del Tl in proporzione inversa alla loro distanza dell'inserzione del tubo adduttore della soluzione. Le gemme basali dei rami si arrestarono nello sviluppo dopo pochi giorni dall'operazione e morirono; quelle mediane si svilupparono ma le foglie cui dettero origine si decolorarono morirono e disseccarono in pochi giorni; le gemme apicali invece dettero origine a rametti di aspetto normale le cui foglie, però, presentavano una decolorazione parziale, sfumata, limitata alla zona del lembo più vicino alle nervature maggiori. L'alterazione, quale si presentava il 10 giugno 1938, è rilevabile dalla fig. 2. Essa è in tutto simile a quella descritta per altre piante ma non presenta le macchie brune che del resto, si è già visto, non sono costanti e si formano solo in casi di intossicazione particolarmente gravi.

L'esperimento eseguito su Pesco e Susino si ripetè sulla vite. In questo caso particolare si voleva sopratutto indagare l'effetto sullo sviluppo dell'infezione peronosporica, infezione che, peraltro, non si verificò neppure sulle piante di controllo nonostante non si eseguissero, per ovvie ragioni, trattamenti cuprici.

Fig. 2. — Decolorazione di foglie di Susino, dovuta ad assorbimento di Tl.

Per l'esperienza si utilizzarono tre Viti adulte di un pergolato di circa m. 2,50 di altezza.

Ad una di esse si praticò il foro alla biforcazione della sommità del tronco assialmente a questo, e si inoculò acqua distillata, come controllo ; alla seconda, da un foro praticato in analoga posizione si fece assorbire soluzione di Tl_2SO_4 allo 0,1 ‰ ed alla terza si somministrò soluzione di Tl_2SO_4 allo 0,5 ‰ facendola penetrare da un foro praticato su un ramo, circa 25 cm. al di sopra della biforcazione. La quantità di liquido assorbita da ciascuna

pianta fu di cc. 450. L'operazione fu compiuta il 14 aprile, allorchè le gemme erano appena ingrossate.

L'assorbimento delle soluzioni fu molto lento avendo impiegato le piante circa 60 giorni, in media, a smaltire i cc. 450 di liquido.

Lo stato delle piante al 60° giorno era quello documentato dalla Tabella XXXII.

TABELLA XXXII.

Azione del solfato di tallio su piante di Viti adulte.

Concentrazione Tl ioni nella soluzione iniettata, mg/litro	Tl assorbito mg/litro	Tralci giovani N.	Lunghezza massima tralci cm.	Diametro medio tralci mm.	Grappoli N.	Sviluppo
0 = Controllo	0	34	86	10	17	ottimo
100	45	17	25	3	0	scarso
500	225	11 (1)	25 (1)	3 (1)	0	(1)

(1) Per quanto riguarda questa pianta si vedano indicazioni più dettagliate nel testo.

Il ramo che aveva ricevuto direttamente il Tl allo 0,5 ‰ presentava numero 11 tralci della lunghezza massima di cm. 35 con poche piccole foglie ciascuno, del diametro di 3 mm.; non presentava alcun racemo fiorale. Il ramo non inoculato invece aveva le caratteristiche seguenti: tralci n. 17; lunghezza massima cm. 130; diametro medio mm. 7 circa; grappoli n. 10. Lo sviluppo di questo ramo era quanto mai rigoglioso, superiore alla quasi totalità delle Viti costituenti il pergolato di cui questa fa parte.

Si può pensare che una parte della soluzione di Tl_2SO_4 somministrata sia ridiscesa fino alla biforcazione e quindi risalita nell'altro ramo producendovi una azione di stimolo molto evidente.

Su questa parte della vite, infatti, non si era notato rallentamento di sviluppo.

E) Azione fitoterapica del tallio.

Non ultimo degli scopi del presente lavoro era quello di indagare sulla eventuale azione fitoterapica del tallio.

A questo si voleva giungere, attraverso lo studio degli effetti dei sali tallosi sui Batteri, sui Funghi e sulle Fanerogame, per studiarne le eventuali applicazioni alle piante.

Non avendo, però, l'andamento climatico della stagione primaverile, nella nostra zona, consentito lo sviluppo di malattie parassitarie, ed in specie della *Plasmopara viticola*, sulla quale si intendeva sopratutto portare l'indagine, si limita la trattazione alle osservazioni compiute sulle malattie sviluppatesi sulle colture in sabbia od inoculate artificialmente alle piante.

Su Frumento, attaccato da *Oidium monilioides* (Nees) Link, si osservò che l'infezione era più grave sul controllo che non sulle piante trattate con tallio, specie con le concentrazioni più elevate. Comunque anche in queste l'attacco si verificò, a dimostrare che l'assorbimento di sali tallosi da sabbia trattata con 0,125 a 1,25 mg/Kg. di Tl non è sufficiente ad impedire l'attacco di questo parassita.

Sulle talee di Pioppo si verificò, sulla parte legnosa sovrastante l'ultima gemma, il disseccamento delle talee stesse; queste talee furono oggetto di attacco, da parte di parassiti o saprofiti, in un solo caso, in sabbia trattata con 0,00125 mg/Kg di Tl, da parte di *Volutella* sp. cui si attribuisce la morte della pianta, non essendosi verificata altra causa apparente. Comunque neppure il controllo fu attaccato da microrganismi ciò che toglie ogni valore al fatto verificatosi nella pianta suddetta, qualunque fosse la concentrazione di Tl nella sabbia.

Inoltre piante di Ricino, sviluppate su sabbia trattata con mg/Kg.: 0, 0,00125, 0,125, 1,25 di Tl inoculate con coltura di un ceppo ben virulento di *Bact. tumefaciens*, dettero luogo a formazioni di tumori. Non si è per ora in grado di riferire sulla entità della manifestazione patologica ma sta di fatto che l'inizio della neoformazione si è verificato ed i tumori sono già ben visibili su tutte le piante, senza differenze apprezzabili.

L'inizio della formazione di tumori avvenne con la stessa rapidità in tutte le piante, ciò che sta ad indicare che l'assorbimento del Tl per via radicale non è sufficiente ad impedire l'attacco da parte dell'agente suddetto.

E) Sulla comparsa di una colorazione rossa sui semi di Fagiuolo in germinazione.

Durante le prove di germinazione si era osservato che sui semi di *Phascolus vulgaris*, della var. *sphaericus*, e solo in questi, si formava dopo un certo tempo, in presenza di Tl, una colorazione rosea, dapprima, poi rossa intensa, diffondentesi leggermente, intorno al seme, sulla carta da filtro.

Si credette, in principio, trattarsi dello sviluppo di forme batteriche cromogene che impartissero la colorazione al seme. Questa ipotesi, però, dovette escludersi perchè, eseguiti, dai semi arrossati, isolamenti ripetuti di germi su agar-fagiuoli, addizionato o non di Tl, non si riscontrò mai sviluppo di germi cromogeni.

L'arrossamento dei semi si verificava nelle scatole Petri contenenti una soluzione almeno allo 0,15 % di Tl ed era più evidente con concentrazioni pari a 0,3 e 0,4 % di metallo, sotto forma di nitrato (1).

Esclusa l'ipotesi batterica, per spiegare la formazione di sostanza rossa, non rimaneva che da supporre un intervento chimico ; restava però da chiarire se il fatto fosse di indole puramente chimica o se entrasse in giuoco l'attività biochimica del seme in germinazione.

Per accertare questo fatto si uccisero semi di Fagiuolo « tondino » mediante immersione per 10′, in acqua alla temperatura di 65 gradi circa, dopo averli tenuti immersi in acqua fredda per alcune ore onde determinarne il rigonfiamento. I semi così trattati furono distribuiti in capsule Petri, su carta da filtro, e trattati con soluzioni di Tl allo 0,3 e 0,4 % e con acqua distillata (controllo).

Una porzione dei semi, dopo il trattamento termico, fu sbucciata e trattata come i precedenti. Giornalmente si seguirono i fenomeni che avvenivano in questa prova e si vide, che in seguito a putrefazione, i semi del controllo ingiallivano mentre quelli in soluzioni Tl annerivano ; l'annerimento era dovuto alla formazione di una pellicola sottilissima, facilmente asportabile, di entità proporzionale alla concentrazione del metallo nella soluzione. Il fatto si attribuisce a fenomeni di deposizione di anidride tallosa avvenuti in seguito ad azioni microbiche.

Contrariamente all'arrossamento, che si verificava nello spessore dei semi, l'annerimento, come si è detto, avveniva solo in superficie, senza penetrazione del composto nero nel seme.

L'annerimento era meno intenso nei semi non sbucciati, come meno intenso era anche l'attacco microbico, ciò che conferma l'ipotesi riferita.

L'esperienza fu ripetuta con semi di Fagiuolo « tondino » e con altri della varietà « di Pistoia » ottenendosi risultati identici.

In particolare, mai si verificarono fenomeni di arrossamento.

Questo ci portò ad escludere l'intervento di una azione puramente chimica : se di tale natura fosse stato, il fenomeno doveva ripetersi anche in semi uccisi con il calore poichè la temperatura di 65° C. non dovrebbe alterare, in sì breve tempo, la composizione del Fagiuolo.

Questo autorizza a ritenere che la formazione della sostanza colorante osservata sia dovuta ad un fatto biochimico.

Le ricerche su detta sostanza non si limitarono a quelle riferite ma se ne indagò anche, fin dove era possibile e compatibilmente con i mezzi a disposizione in un Laboratorio di Microbiologia, la natura e le caratteristiche chimiche.

(1) Non si fecero ricerche comparative con Tl_2SO_3.

Per queste fu indagata la solubilità. Si osservò che il colore si estraeva dai semi, con acqua, a freddo, dando un liquido intensamento colorato in rosso-scarlatto ; si scioglieva anche in alcool metilico. Non ne era invece possibile l'estrazione con cloruro di carbonio, cloroformio, benzolo, etere etilico, ed alcool amilico.

Saggiando la solubilità del composto in alcool etilico a 95°, si osservò che questo estraeva parzialmente, in un primo tempo, la sostanza colorante, colorandosi a sua volta in rosso ma dopo qualche minuto si incominciava a notare una rapida decolorazione, prima dell'alcool, quindi dei semi in esso immersi.

Lo stesso fenomeno si verificava aggiungendo un volume di alcool ad uno di soluzione acquosa della sostanza colorante.

Questa soluzione acquosa con pochi cm.^{3} di una soluzione di alcali (Na OH o KOH) al 5-10 % virava al bruno quasi istantaneamente : col tempo la colorazione bruna si faceva più intensa e dopo qualche ora si stabilizzava. Trattando con acidi forti non troppo diluiti, si otteneva decolorazione, più o meno rapida, ma non istantanea, della soluzione acquosa iniziale, accompagnata da intorbidamento dovuto forse alla coagulazione dei colloidi estratti dai semi con l'acqua.

Aggiungendo, alla soluzione acquosa, acetato basico di Pb, in un tentativo di defecazione della soluzione stessa, si osservò che mentre si aveva un abbondante precipitato biancastro, caseoso, si separava un liquido che in un primo tempo era intensamente colorato in rosso-violaceo ed era invece, incoloro dopo qualche tempo.

Con il reattivo tannico (ac. tannico 5 % ed acetato sodico 5 % in H_2O) di *Weingartner* e *Green* (1), per l'analisi delle sostanze coloranti artificiali, precipitano le sostanze che accompagnano il composto colorato in rosso ma non il composto stesso. Per questo fatto la sostanza colorante si dovrebbe classificare fra i coloranti acidi ma ricerche successive eseguite con il metodo di *Weingartner* modificato da *Green* non permisero di attribuire questo composto ad alcuna delle classi in cui i suddetti Aa. suddividono i coloranti acidi per la loro identificazione chimica. Questo portò ad escludere che si trattasse di una sostanza compresa fra quelle prese in esame dal metodo suddetto.

La soluzione acquosa del colorante è stabile all'ebollizione, con cui precipitano, in parte, le sostanze che l'accompagnano ; ha reazione leggermente alcalina dovuta, forse, alla formazione di lievi quantità di ammoniaca dalla putrefazione dei composti quaternari passati in soluzione dal seme.

Il carbone animale non decolora l'estratto acquoso.

---

(1) Vedi Panizzon. — *Trattato di chimica delle sostanze coloranti artificiali e naturali*. Ed. Hoepli, Milano, 1921.

Un'altra ricerca eseguita sul composto colorato prodotto nei semi di Fagiuolo in germinazione fu quella relativa alla intensità colorante. Per questa ricerca si estrassero ripetutamente con acqua distillata 125 semi, del peso di circa gr. 40 allo stato naturale sui quali si era prodotta la colorazione; si filtrò l'estratto acquoso attraverso una candela di *Berkefeld* in porcellana porosa, per ottenerlo ben limpido, si portò a cc. 100 e si confrontò al colorimetro con una soluzione idro-alcoolica di cloridrato di rosanilina. Ne risultò che l'intensità di colorazione della sostanza estratta da 125 semi era paragonabile a quella di una soluzione all'1 ‰ di rosanilina, di cui è noto il potere colorante.

Inoltre si osservò che cc. 5 dell'estratto acquoso di cui sopra (corrispondenti alla quantità di composto prodottasi in 6 semi circa) erano sufficienti ad impartire una colorazione rosea ancora ben apprezzabile a cc. 995 di acqua.

Dalle ricerche sopra riportate e, sopratutto, dalla decolorazione in presenza di acidi forti e di alcool etilico, dal viraggio al bruno con alcali e dalla decolorazione con acetato basico di piombo è lecito dedurre che si tratti di un composto tallo-organico formantesi in seguito all'attività germinativa dei semi, per unione del metallo sia a sostanze organiche già presenti nel seme in riposo, sia a composti originati dall'attività germinativa, ciò che è più verosimile.

Conclusioni.

Da quanto si è finora esposto emergono numerosi fatti che ora si mettono in rilievo.

Per quel che riguarda i microrganismi, anzitutto, si osserva che il « fattore mezzo » ha importanza capitale nel determinismo dei fenomeni biologici di stimolazione e di tossicità; fatto, questo, comune a tutti i metalli pesanti. Così, mentre nei comuni mezzi di coltura i microrganismi risentono effetti dannosi da dosi di pochi mg/litro di Tl, nel terreno, invece, sono praticamente insensibili anche a dosi dell'1 % di metallo.

Sulle attività microbiochimiche del suolo il Tl ha azione stimolante o tossica, « in vitro », a seconda delle concentrazioni. L'una e l'altra azione, però, di norma, si esplica entro limiti di concentrazione abbastanza vasti. Questa è una riprova della scarsa influenza del metallo sui germi umicoli, anche in condizioni artificiali di esperienza, quale non lascerebbe supporre il suo elevato peso atomico.

Sulle specie batteriche pure, benchè studiate in numero limitato, non sono apparse differenze notevoli di resistenza al metallo. Nel confronto con solfato di rame il tallio ha dimostrato sui Batteri azione antisettica meno energica.

Il contrario avviene sui Funghi i quali resistono molto meglio al rame che non al tallio, mentre le Alghe, basandosi sui dati riferiti dagli Aa. per quanto riguarda il rame, risentirebbero in misura molto minore gli effetti del Tl.

I semi delle varie specie di Fanerogame risentono in grado assai diverso l'azione tossica del Tl ; particolarmente sensibili sarebbero quelli di Mais. I semi, inoltre non subirebbero, per effetto del metallo, una semplice stasi di germinazione ma ne sarebbero del tutto uccisi.

Le piante erbacee hanno dimostrato di non tollerare, altro che eccezionalmente, dosi di 125 mg di Tl per Kg. di sabbia mentre le piante arboree resistono molto meglio, nelle stesse condizioni, e tollerano nel mezzo di coltura (sabbia) dosi di mg/Kg. 250 accusando solo lievi disturbi (Mirabolano) od anche senza risentirne danno (Pioppo).

L'assorbimento del tallio attraverso il tronco produce nelle piante arboree effetto fortemente deprimente od anche nettamente tossico per soluzioni allo 0,5 ‰, nella quantità somministrata (cc. 450 di soluzione alla Vite e cc. 900 al Susino). Qualche pianta (Vite) risente danno anche da soluzioni allo 0,1 ‰ somministrate nella stessa quantità.

BIBLIOGRAFIA.

1. Boas F., *Beobachtungen über Stammesauslese.* Centralbl. f. Bakt., II Abt., *78*, 21, 1929.
2. Bodnàr J. u. Terenyi A., *Einfache und schnelle analytische Methoden zur Bestimmung des Wirkungs-substanz-gehaltes von Pflanzenschutzmitteln. I. Mitt. titrimetrische Bestimmung des Thallium in Zelio präparaten.* Ztschr. f. anal. Chem. Biol., *69*, 24, 1936.
3. Borzini G., *Influenza degli ioni tallio sulla germinazione di semi diversi e sullo sviluppo delle piante.* Boll. Staz. Pat. Veg., *15*, 200, 1935.
4. Brooks S. C., *Thallium poisoning and soil fertility.* Science, *75*, 105, 1932.
5. Burström B., *Undersäkningar över oorganiska ämmens giftverkningar vit betning av Tilletia tritici sporer.* Centralanst. för försöksväsendet pa jordbruksomradet Medd., *356*, 1929.
6. Buschke A. u. Jacobson, *Untersuchungen über Thallium Wirkung.* Dtsch. med. Wochenschr. *48*, 859, 1922.
7. Buschke A., Zondek B. u. Bermann L., *The inhibiting action of Thallium on the estrical cycle in mice.* Klin. Wochenschr., *6*, 683, 1927.
8. Callau (Mc) S. E. A. a. Vilcoxon F., *Fungicidal action and the periodic system of the elements.* Contrib. fr. Boyce Thompson Inst. *6*, 479, 1934.
9. Cool (Mc) M. M., *Effect of Thallium sulphate on the growth of several plants and on nitrification in soil.* Contr. fr. Boyce Thompson Inst. *5*, 289, 1933.

10. Dilling W. J., *Influence of lead and the metallic ions of copper, zinc, thorium, beryllium and thallium on the germination of seed.* Ann. Appl. Biol. *13*, 160, 1926.

11. Dilling W. J. a Healey C. W., *Influence of lead and the metallic ions of copper, zinc, thorium, beryllium, and thallium on the germination of frog's spawn and on the growth of tadpoles.* Ann. Appl. Biol. *13*, 177, 1926.

12. Fargher R. G., Galloway L. D. a. Probert M. E., *The inhibitory action of certains substances on the growth of mould fungi.* Shirley Inst. Mem. Didsbury *9*, 37, 1930.

13. Mamoli L., *Avvelenamento cronico da Tl ed alterazioni oculari.* Sperimentale Arch. *80*, 229, 1926.

14. Molisch H., *Mikrochemie der Pflanze.* Jena, 1933.

15. Morris L. E., *Mildew in cotton goods. Antiseptics and the growth of mould fungi on sizing and finishing materials.* Journ. of text. Inst., *18*, 99, 1927.

16. Munch J. C. a. Silver J., *The pharmacology of Thallium and its use in rodent control.* U. S. Dept. Tech. Bull. *238*, 1931.

17. Murtrey (Mc) E., *Effect of Thallium on growth of Tobacco plants.* Science, N. S. *26*, 86, 1932.

18. Olivier L., *L'intoxication chronique par l'acetate de thallium.* C. R. Soc. Biol. *96*, 164, 1927.

19. Perotti R., *Tecnica di Biologia Vegetale applicata all'Agricoltura.* Roma, 1928.

20. Ricket C., Cardot H. e Bachrah E., *Accoutumance et sélection du ferment lactique dans les milieux toxiques.* Journ. de Phys. et de Pathol. Gen. *19*, 466, 1921.

21. Schander R. u. Götze G., *Über Rotten und Rottenbekämpfung.* Centralbl. f. Bakt., II Abt., *81*, 357, 1931.

22. Stover N. M. a. Hopkins B. S., *Fungicidal and bactericidal action of selenium (thallous selenite) and thellurium compound.* Ind. e Engin. Chem., *19*, 510, 1927.

23. Trüff G., *Über die biologische Wirkung des Thallium azetats.* Dermatol. Wochenschr. *88* (11), 409, 1929.

24. Tunman O. u. Rosenthaler L., *Pflanzenmikrochemie.* Berlin, 1931.

25. Zondek B. u. Aschlemm S., *Ovarian hormone production as affected by Thallium.* Biol. Abstr. n. 1084, vol. 11.

26. Ward Lyon M., *Thallium poisoning.* Science, *75*, 381, 1932.

27. Winogradsky S., *Etudes sur la microbiologie du sol. IV. Sur la dégradation de la cellulose dans le sol.* Ann. Inst. Pasteur, *43*, 549, 1929.

ROMA - TIP. OPERAIA ROMANA

VIA EMILIO MOROSINI, N. 17

:: :: 1939 - ANNO XVII :: ::